



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**RELEVAMIENTO DE TOROS PORTADORES DE LAS
ENFERMEDADES HEREDITARIAS BLAD,
BRAQUIESPINA, CMV
Y DUMPS EN LA RAZA HOLSTEIN FRIESIAN DE
URUGUAY**

“por”

Mariana RAMIREZ FIRPO

TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias

Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Estudio de caso

MONTEVIDEO

URUGUAY

2023

PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de Mesa:

Dra. Andrea Branda



Segundo Miembro (Tutor):

Dr. Rody Artigas



Tercer Miembro:

Dr. Kevin Yaneselli



Cuarto Miembro (Cotutora):

Dra. Silvia Llambí



Quinto Miembro (Cotutora):

Dra. María Teresa Federici

Fecha: 25/5/2023

Autor:



Br. Mariana Ramirez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a mi familia, por la contención y apoyo brindado durante todos estos años.

A mis amigas Mariana Mignone, Jessica D`Imperio, Virginia Redes, Gabriela Espel, Lucia Hernández e Irina Estefan por la motivación, la empatía y el apoyo en las últimas etapas de la carrera.

Al Dr. Rody Artigas por su calidad humana, acompañamiento en cada etapa y orientación invaluable en la realización de esta tesis.

A la Dra. María Teresa Federici y la Dra. Silvia Llambí por sus aportes, consejos y apoyo para enriquecer este trabajo.

Al personal del área de documentación y biblioteca por la disposición a contribuir en las búsquedas bibliográficas y citas de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTADO DE CUADROS Y FIGURAS	6
RESUMEN.....	8
SUMMARY.....	9
INTRODUCCIÓN	10
CAPÍTULO 1: BLAD.....	13
1.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES.....	13
1.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DEL BLAD.....	14
1.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD.....	17
1.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD	18
CAPÍTULO 2: DUMPS.....	19
2.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES.....	19
2.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DE LA DUMPS.....	20
2.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD.....	21
2.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD	21
CAPÍTULO 3: COMPLEJO DE MALFORMACION VERTEBRAL	22
3.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES.....	22
3.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DEL COMPLEJO DE MALFORMACIÓN VERTEBRAL.....	23
3.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD.....	24
3.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD	26

CAPÍTULO 4: SINDROME BRAQUIESPINA	27
4.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES.....	27
4.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DEL SINDROME	
BRAQUIESPINA	28
4.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD	28
4.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD	31
CAPÍTULO 5: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	33
5.1. HIPÓTESIS.....	33
5.2. OBJETIVOS GENERALES	33
5.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
CAPÍTULO 6: MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
6.1. MATERIALES	34
6.2. MÉTODOS.....	34
CAPÍTULO 7: RESULTADOS.....	35
CAPÍTULO 8: DISCUSIÓN... ..	41
CAPITULO 9: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	46
BIBLIOGRAFÍA	47

LISTADO DE CUADROS Y FIGURAS

FIGURA 1	16
Cascada de adhesión de leucocitos.	
FIGURA 2	25
CMV en ternero Holstein Friesian nacido el día 272 de gestación.	
FIGURA 3	25
Ternero afectado por CMV.	
TABLA 1	29
Resumen de lesiones y malformaciones presentes en el síndrome braquiespina	
FIGURA 4	30
Diferentes hallazgos en terneros con Braquiespina.	
TABLA 2	32
Descripción de BLAD, DUMPS, CVM y SB en bovinos de raza Holstein Friesian.	
FIGURA 5	35
Procedencia de los toros del catálogo de padres de las evaluaciones genéticas lecheras.	
TABLA 3	36
Condición genética para el BLAD de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia	
TABLA 4	36
Condición genética para el DUMPS de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia	
TABLA 5	37
Condición genética para el CMV de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia	

TABLA 6	37
Condición genética para el SB de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia	
FIGURA 6	38
Ingreso de semen de toros con test diagnóstico (CD) (%) y portadores (BY) (n) a Uruguay.	
TABLA 7	39
Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (BLAD).	
TABLA 8	39
Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (DUMPS).	
TABLA 9	40
Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (CMV).	
TABLA 10	40
Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (SB).	

RESUMEN

La deficiencia de adhesión leucocitaria bovina (BLAD), la deficiencia de uridin monofosfato sintasa (DUMPS), el complejo de malformación vertebral (CMV), y el síndrome braquiespina (SB) son enfermedades autosómicas recesivas, que se traducen en importantes pérdidas económicas en el ganado Holstein Friesiana nivel mundial. En esta tesis fueron analizados los registros de acceso público de 3028 toros Holstein Friesian del catálogo de padres del año 2021, así como los toros activos de los catálogos de semen lechero disponibles para Uruguay desde el año 2016 al 2022. Se determinó que la prevalencia de BLAD, DUMPS, CMV Y SB en el catálogo de padres de las evaluaciones genéticas lecheras es de 0.87%, 0%, 3.7% y 4.6% respectivamente. No se detectó semen declarado como portador de BLAD, DUMPS o CMV entre los años 2016 - 2021, pero sí semen portador de SB. Se advierte una alta proporción de animales sin información disponible acerca del estatus genético para estas enfermedades, lo que podría significar que aún se utilicen toros portadores sin saberlo. Esto contribuiría a aumentar la frecuencia de los alelos deletéreos en las poblaciones, produciendo mortalidad embrionaria, fetal y perinatal en los rodeos nacionales.

SUMMARY

Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD), uridine monophosphate synthase deficiency (DUMPS), vertebral malformation complex (CMV), and brachyspina syndrome (SB) are autosomal recessive diseases, resulting in significant economic losses in the Holstein Friesian cattle worldwide. In this thesis, the public access records of 3028 Holstein Friesian bulls from the 2021 sire catalog were analyzed, as well as the active bulls from the dairy semen catalogs available for Uruguay from 2016 to 2022. It was determined that the prevalence of BLAD, DUMPS, CMV and SB in the catalog of parents of dairy genetic evaluations is 0.87%, 0%, 3.7% and 4.6% respectively. No semen declared carrier of BLAD, DUMPS or CMV was detected between the years 2016 - 2021, but semen carrier of SB was detected. A high proportion of animals without available information about the genetic status for these diseases is noted, which could mean that carrier bulls are still used without knowing it. This would contribute to increase the frequency of deleterious alleles in populations, producing embryonic, fetal and perinatal mortality in national herds.

INTRODUCCIÓN

El rodeo lechero nacional, como todo sistema productivo, se enfrenta a un flujo de ingresos y egresos. El balance positivo del sistema debe contemplar, entre otros, aspectos sanitarios que aseguren el mantenimiento de un rodeo dinámico y productivo. Para cumplir los objetivos del sistema, resulta básica la obtención de terneros saludables.

En la supervivencia de los terneros entran en juego diversos factores: de origen nutricional, metabólico, infeccioso, de manejo, y también de origen genético (Branda Sica et al., 2018). Los factores genéticos han sido instalados y perpetuados en el rodeo, a través de la aplicación de programas dedicados al mejoramiento genético, enfocados hacia el incremento de la producción láctea. Estos programas, indirectamente, suponen la incorporación y expansión de las enfermedades hereditarias bovinas (Kelly et al., 2012).

Las anomalías genéticas tienen como característica el manifestarse en individuos que comparten vínculos familiares o ancestro común. Su aparición no responde a factores estacionales ni a localizaciones geográficas, y se correlaciona a un aumento de la consanguinidad poblacional (Fuertes et al., 2011).

Consecuencias de estos desórdenes genéticos son la repetición de celos, aumento del intervalo parto – concepción (debido a reabsorción embrionaria y abortos), malformaciones congénitas o muertes postnatales, no logrando el objetivo primordial del sistema productivo lechero: un ternero por vaca por año. Las pérdidas son directas por muerte de terneros, aumento de los costos por tratamiento médico, así como por las dificultades generadas al no obtener suficientes terneras para reposición (Branda Sica et al., 2018).

Algunas medidas de manejo como la endocría llevan a un aumento de la consanguinidad del rodeo, que incrementa la expresión de defectos recesivos indeseables (Fritz et al., 2013). La aparición de alelos deletéreos en las poblaciones bovinas Holstein Friesian a nivel mundial se deben al uso de escasos toros de elite, con alto mérito genético, portadores (heterocigotos). Dichos toros han sido empleados durante años a través de técnicas de inseminación artificial generando una diáspora de su material genético. De este

modo, han aumentado las chances de que los alelos deletéreos se manifiesten en la progenie de modo no intencional (Kelly et al.; 2012; Meydan, Yildiz y Agerholm, 2010; Windsor y Agerholm, 2009), hecho facilitado por la presión de selección y la producción de un gran número de descendientes a nivel mundial (Khade, Doiphode, Umrikar, Sawane y Pawar, 2014).

Las enfermedades hereditarias conocidas en bovinos son la mayoría causadas por un solo gen autosómico recesivo (Branda Sica et al., 2018), manifestándose fenotípicamente en el individuo cuando ambos alelos están presentes (homocigota recesivo) (Meydan et al., 2010). A través del cruzamiento de dos animales portadores, se obtiene un 25% de homocigotas dominantes, 50% de portadores (heterocigotos), y 25% de homocigotos recesivos. En consecuencia, el cruzamiento de los descendientes de estos reproductores de elite portadores incrementa de manera sustancial el riesgo de producir una progenie defectuosa (Windsor y Agerholm, 2009).

Los defectos autosómicos recesivos se expanden de forma asintomática, y el efecto de su aparición en una población se manifiesta a largo plazo, con varias generaciones de cruzamientos, cuando ya es inevitable el daño ocasionado (Uffo y Acosta, 2009).

Existen más de 5000 enfermedades genéticas autosómicas recesivas en humanos y un número equivalente de enfermedades con comportamiento similar se han identificado en animales (Kumar, Kumar Singh y Sharma, 2010). En los bovinos se han registrado 628 caracteres fenotípicos de los cuales el mecanismo molecular se conoce solo en 205 de ellos (OMIA, 2020). Muchos de esos caracteres corresponden a enfermedades hereditarias y varias se dan de forma exclusiva en la raza Holstein Friesian.

La raza Holstein Friesian es la más utilizada en producción lechera en el mundo (WHFF, anual statics 2017), por ello es necesaria una estrecha integración de asociaciones de criadores a nivel mundial y coordinación de programas de detección de defectos genéticos para reducir el riesgo de nuevos desórdenes recesivos y para reducir la prevalencia de los ya existentes (Ruśc y Kamiński, 2015). De este modo, las técnicas de reproducción asistida requieren un monitoreo constante de la población activa para detectar enfermedades

genéticas, por lo que todos los toros deberían ser testeados, a pesar de que la prevalencia de los alelos recesivos sea baja en la población (Kumar, 2015).

Gracias a la caracterización del genoma bovino en las últimas décadas, su secuenciación y el estudio de diferentes marcadores moleculares, se han podido localizar las mutaciones ligadas a desórdenes heredables (Akyüz, Sariözkan y Bayram, 2015; Ilie et al., 2011) y conocer el genotipo de los animales. Esto permite llevar a cabo cruzamientos planificados, ayudar a prevenir pérdidas económicas, y excluir animales portadores del programa de cría (Akyüz, et al., 2015).

El conocimiento de que un reproductor está libre de tales mutaciones aumenta su valor agregado. A esto responde la tendencia mundial de implementar programas de vigilancia para enfermedades genéticas (Uffo y Acosta, 2009).

En esta tesis evaluaremos el comportamiento de cuatro desórdenes genéticos en la raza Holstein Friesian (Deficiencia en la adhesión leucocitaria bovina, Deficiencia en la uridín monofosfato sintasa, Complejo de malformación vertebral y Síndrome de braquiespina), en toros pertenecientes al catálogo de padres de las evaluaciones genéticas lecheras, así como en el semen disponible que ingresó al país entre los años 2016 al 2021.

CAPÍTULO 1: BLAD (Bovine leukocyte adhesion disease, deficiencia de adhesión leucocitaria bovina).

1.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES

También conocida como granulocitopatía bovina, BLAD (OMIA 000595 – 9913) es un desorden de herencia autosómica recesiva y letal, que afecta al ganado bovino Holstein Friesian. Está ampliamente distribuido a nivel mundial, y supone graves pérdidas económicas (Kelly et al., 2012; Llambí, 2002).

Se describió por primera vez en Estados Unidos y cuatro años después en Japón como un síndrome granulocitopático que afectaba a terneros y vacas Holstein Friesian descendientes de ganado proveniente de Estados Unidos (Uffo y Acosta, 2009). Un estudio posterior realizado por Nagahata et al. (1997) detectó vacas de 11 años de edad portadoras de BLAD, lo cual demostró que los individuos portadores existieron en el país antes de 1983.

Desde el primer reporte el defecto se ha extendido por el mundo. Esta situación fue facilitada por la importación de semen y vacas sin genotipado, el uso de toros para servicios sin control genético y la no eliminación de portadores de los rodeos, que aumentaron su prevalencia (Akyüz et al., 2015). La magnitud de tal efecto puede visualizarse al considerar al toro portador Carlin M. Ivanhoe Bell nacido en Estados Unidos en 1980 quien tuvo 79.000 hijas registradas y 1200 hijos. El estudio de su pedigree logró trazar la mutación hasta su abuelo paterno: Osborndale Ivanhoe (Kelly et al. 2012).

En el año 1996, la *Hoard's Dairyman** de USA publica una lista de toros portadores del BLAD entre los 100 mejores toros americanos: Coldsprings Osado, Dixie-Lee Ivanhoe Henry-ET, Ikenotch Bellor Jack, Schutzs Brass Bell, Liss-Cres- View Jess, Thonyma Secret, Bchnc Bell Benjamín, Clov-Hi Marck Astra Bram, Osborndale Ivanhoe, Penstate Ivanhoe Star, Carlin M Ivanhoe Bell (Llambí, 2002).

**Hoard's Dairyman*: Publicación comercial agrícola estadounidense que se centra en la producción lechera.

Los toros registrados como portadores han sido nombrados con las letras BL mientras que los animales libres de la enfermedad se identifican como TL. Esta nomenclatura debe ser tenida en cuenta en la elección del semen (Nagahata et al., 1997), siendo aceptada a nivel internacional para la identificación en los catálogos.

Un desorden genético similar fue descrito en humanos (LAD, Leukocyte adhesion deficiency) a comienzos de 1970 (OMIM 116920). LAD es clínicamente muy similar al BLAD (Akyüz et al., 2015; Patel y Singh, 2003), y supone trasplante de medula ósea para evitar muerte temprana en niños, dada la propensión a infecciones bacterianas recurrentes y leucocitosis persistente (Llambí, 2002). CLAD (Canine leukocyte adhesion deficiency, OMIA 000595 – 9615), fue descrita en la raza Setter irlandés en el año 1999, con similares características (Trowald Wigh, Håkansson, Johannisson, Norrgren y Hård af Segerstad, 1992).

1.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DEL BLAD

La base molecular del BLAD es una mutación puntual en el gen CD18 (también conocido como IGFB2), localizado en el cromosoma bovino 1 (BTA1), responsable de codificar la subunidad β de las β 2 integrinas (Shuster, Bosworth, y Kehrli, 1992).

Las β 2 integrinas son una familia de moléculas proteicas de adhesión. Se trata de heterodímeros formados por una subunidad α específica (CD11) unida a una subunidad β (CD18) común. Las subunidades α se denominan CD11a, CD11b y CD11c que unidas a la subunidad β idéntica (CD18) forman las integrinas LFA - 1 α , Mac-1 α y p150,95 α respectivamente (Patel y Singh, 2003). La asociación de la subunidad α con la β debe darse dentro de la célula antes de que el heterodímero se exprese en la superficie celular (Ilie et al., 2011).

En un proceso infeccioso focal, el endotelio vascular produce moléculas de adhesión celular. Esto permite que los neutrófilos y monocitos se unan al endotelio y puedan salir del vaso sanguíneo. Una vez en los tejidos migran al tejido infectado siguiendo las citoquinas quimioatrayentes (Figura 1).

La migración de los leucocitos se da en 4 fases (Tizard, 2009)

- 1- Rolling: Los productos bacterianos como el lipopolisacárido, así como la trombina o la histamina producidas por los tejidos dañados, induce en las células endoteliales de los capilares la producción de moléculas de adhesión denominadas selectinas (selectina-E, selectina-P). Estas selectinas interactúan con la selectina-L de la superficie de los neutrófilos, produciendo una unión débil y temporal (ya que los neutrófilos suprimen rápidamente la expresión de selectina-L). A pesar de ello, los neutrófilos se enlentecen gradualmente y ruedan por la superficie de las células endoteliales.
- 2- Adherencia: El factor activador plaquetario secretado por las células endoteliales induce a los neutrófilos a expresar la integrina LFA-1, que se unirá a la molécula de adhesión ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1) expresada en las células endoteliales. De este modo los neutrófilos se detienen por completo.
- 3- Emigración (Diapédesis): los neutrófilos pasan entre las células endoteliales e ingresan al tejido.
- 4- Quimiotaxis: Los neutrófilos se dirigen directamente al foco infeccioso. Lo hacen siguiendo moléculas quimiotácticas liberadas como consecuencia de las bacterias invasoras y de las células lesionadas.

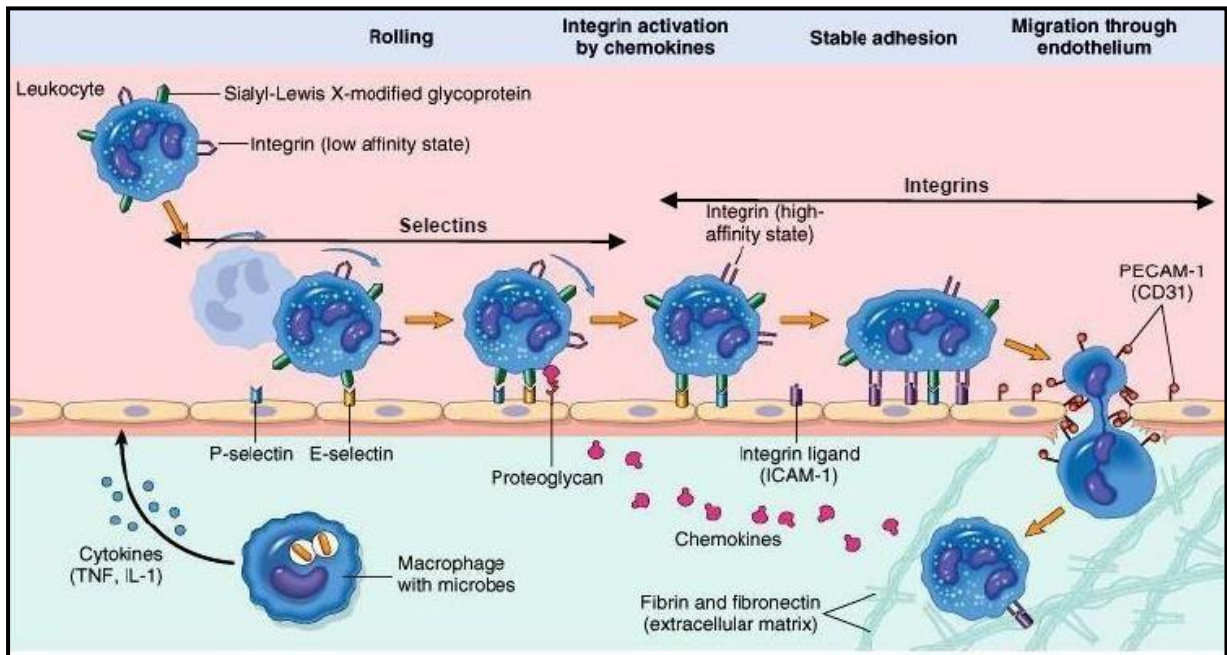


Figura 1: Cascada de adhesión de leucocitos (Zachary y Mc Gavin, 2012)

La mutación asociada a BLAD es un cambio puntual ($A \rightarrow G$) en el nucleótido 383 del exón 4 del gen CD18 (Meydan et al., 2010; Nagahata et al., 1997). La mutación causa una sustitución de ácido aspártico por glicina en el aminoácido 128 (Branda Sica et al., 2016; Kelly et al., 2012) de la subunidad β . La subunidad β defectuosa no puede ensamblarse con la subunidad α dentro de la célula, formando una molécula $\beta 2$ integrina defectuosa, carente de subunidad α . Esto impide el transporte de los neutrófilos hacia el sitio de infección (Patel y Singh, 2003). De este modo, si bien reconocen sustancias químicas producidas por los microorganismos, pierden su capacidad de fijarse a las paredes vasculares para llegar al tejido infectado (migración y fagocitosis). Como consecuencia de ello, los bovinos afectados son incapaces de combatir las enfermedades bacterianas comunes, las cuales pueden persistir o recurrir (Uffo y Acosta, 2009), causando la muerte de los animales.

Las frecuencias alélicas para BLAD durante los últimos 15 años han ido disminuyendo en los trabajos reportados, hasta llegar a cero en 2018 a nivel nacional: el uso de semen genotipado libre podría explicar este hecho (Branda Sica et al., 2018).

1.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD

Los individuos al nacer son aparentemente sanos, pero a las pocas semanas comienzan síntomas de fiebre alta, diarrea crónica, falta de cicatrización de heridas, gingivitis e infecciones generalizadas que terminan con la muerte del animal sin responder a tratamientos convencionales con antibióticos (Uffo y Acosta, 2009). La muerte y los tratamientos implementados debido a las infecciones recurrentes aumentan las pérdidas para el productor.

Se han registrado neumonía, gingivitis, periodontitis, pérdida de dientes, papilomatosis, dermatofitosis, retraso en la cicatrización de heridas y en el crecimiento (Meydan et al., 2010), infecciones bacterianas recurrentes y úlceras de la mucosa oral (Kumar, 2015). El pronóstico de este desorden está relacionado al grado y localización de la inflamación en los diferentes lugares afectados, siendo la expectativa de vida de los terneros homocigotas recesivos de 2 a 8 meses (Ilie et al., 2011; Llambí et al., 2003). Algunos terneros afectados pueden sobrevivir el primer año de vida, pero padecen un severo retraso en el crecimiento y varias infecciones (Akyüz et al., 2015).

Un recuento de leucocitos totales mayor a 40×10^9 células/litro, a predominio de neutrófilos (>80%), es un hallazgo contundente (Windsor y Agerholm., 2009). Por lo que BLAD debe ser una sospecha inicial si existen signos de inmunodeficiencia asociados al aumento de neutrófilos circulantes, persistente y progresivo, y linfocitosis moderada.

A la necropsia, la inmunodeficiencia se refleja en las lesiones inflamatorias originadas por bacterias y hongos oportunistas (Windsor y Agerholm, 2009). Las lesiones en la mayoría de los tejidos consisten en inflamación granulomatosa. A la histopatología, se observan numerosos neutrófilos en capilares sinusoides y vasos sanguíneos que contrastan con el bajo número de neutrófilos extravasculares en los tejidos inflamados y en los que se puede observar sobrecrecimiento de microorganismos (Uffo y Acosta, 2009).

Las lesiones histopatológicas más frecuentemente descritas han sido enteritis necrótica, hiperplasia linfoide e histiocitosis de los ganglios linfáticos, lesiones de

neumonía, laringitis, traqueítis e hiperplasia mieloide en médula ósea (Uffo y Acosta, 2009).

Algunas lesiones purulentas pueden observarse en pulmones, dado que la migración de neutrófilos a este nivel es independiente de CD11/CD18. El pulmón, a diferencia de otros tejidos, ha sido reconocido como un órgano capaz de reclutar neutrófilos, independientemente de la ruta CD18 (Nunes et al., 2010).

1.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD

Al provocar una sintomatología inespecífica, dada por la propensión a adquirir infecciones (Branda Sica et al., 2016), es necesario implementar técnicas moleculares para la detección de alelos deletéreos para BLAD (Meydan et al., 2010).

Recientes avances en genética molecular permitieron la identificación de portadores a través de su análisis genómico. Existen reportes del alelo BLAD en ganado Holstein Friesian uruguayo a través del uso de PCR-RFLP; del inglés *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*, (Llambí et al., 2003) y PCR-secuenciación (Branda Sica et al., 2016).

Actualmente, la técnica de screening PCR-HRM (PCR con la aplicación de *High Resolution Melting*, análisis de curvas de fusión de alta resolución) utilizada como método de detección de mutaciones como BLAD, ha resultado una herramienta sensible, confiable y económica (Branda Sica et al., 2018; Federici et al., 2018).

CAPÍTULO 2: DUMPS (Deficiencia de uridin monofosfato sintasa).

2.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES

DUMPS (OMIA 000262-9913) es un desorden hereditario, letal y autosómico recesivo del ganado bovino Holstein Friesian, que ha sido reportado en países como Republica Checa, Polonia, Rumania (Vătăşescu et al., 2006), Turquía (Ağaoğlu, Ağaoğlu y Saatci, 2015), y Uruguay (Branda Sica et al., 2018), entre otros.

Es responsable de mortalidad embrionaria al momento de la implantación en el útero (Kamiński, Grzybowski, Prusak y Ruśc, 2005; Meydan et al., 2010), alrededor del día 40 post fertilización, lo cual supone una alta tasa de retorno al celo en la hembra reproductora (Ilie et al., 2011).

La mayoría de los portadores de DUMPS identificados en Norteamérica (n = 444) y Europa (n = 314) eran descendientes de Happy – Herd Beautician, toro usado en forma extensiva (fue el quinto mejor toro en la US Holstein en 1987) y destacado por su producción, entre otras características superiores. En enero de 1992, Happy – Herd Beautician tenía 16000 descendientes registrados en la Holstein Association of America, la mitad de los cuales debe ser considerado portador (Kaminśki et al., 2005). En la década de los 80, el toro variedad colorada portador de DUMPS "Needle-Lane Jon-Red" dejó 106 descendientes portadores en Norteamérica y 84 en Europa.

Los toros registrados en los catálogos como portadores se identifican con las letras DP, y los animales libres con las letras TD, nomenclatura aceptada a nivel internacional.

Paralelamente, la aciduria orótica hereditaria (OMIM 258900) es un desorden de similares características identificado en humanos, de tipo autosómico recesivo, debido a una deficiencia de la enzima uridin 5'-monofosfato sintasa. Considerado como "enfermedad rara", produce anemia megaloblástica, cristaluria por ácido orótico y retraso físico y mental (Uffo y Acosta, 2009).

2.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGIA DE LA DUMPS

El ganado tiene numerosas enzimas relacionadas con el metabolismo, crecimiento, reproducción, lactación, entre otros procesos. Defectos en algunas de estas enzimas pueden originar problemas fisiológicos moderados a severos. Se conocen al menos siete deficiencias enzimáticas hereditarias, de las cuales DUMPS es una de las más importantes (Kotzé, Van der Walt y Vorste, 1994).

Se origina por una mutación puntual (C → T), ubicada en el gen UMPS del cromosoma 1 bovino (q31-36), en el codón 405, exón 5 (Kumar et al., 2010; Meydan et al., 2010; Uffo y Acosta, 2009). Este gen cataliza la biosíntesis de UMPS (uridin monofosfato sintetasa) (Fuertes et al., 2011), enzima responsable de convertir el ácido orótico a uridin monofosfato (UMP), componente esencial de los nucleótidos de pirimidina, constituyente de los ácidos nucleicos: ADN y ARN (OMIA, 2018).

En las células de mamíferos, el último paso de la síntesis de nucleótidos de pirimidina implica la conversión de orotato a uridin monofosfato sintetasa (UMP), catalizada por la enzima UMP sintetasa. Los nucleótidos son esenciales en el crecimiento y desarrollo de especies rumiantes y monogástricos (Kumar, 2015). Asimismo, son constituyentes normales de la leche de vacas y otros rumiantes (Kumar et al., 2010). En consecuencia, cuando el alelo mutante está presente, implica una deficiencia total de la enzima UMPS funcional en sangre.

En un ensayo llevado a cabo en la Universidad de Illinois en 1993, se pudieron determinar los niveles de ácido orótico presentes en leche en un lote de vacas. Algunas vacas tenían altos niveles de este ácido. Una de las hipótesis planteadas fue que tuviesen niveles deficientes de UMPS (fuesen portadoras de DUMPS), la cual fue confirmada a través de tests bioquímicos que detectaron sólo un 50% de actividad normal de la enzima UMPS (Rezaee et al., 2009; Uffo y Acosta, 2009). Este lote de vacas portadoras presentaba 5 a 6 veces más concentración de ácido orótico en leche, así como en sangre y orina. Estudios moleculares posteriores confirmaron esta premisa (OMIA, 2019).

2.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD

Esta mutación compromete el crecimiento y desarrollo de los embriones homocigotas recesivos, generando mortalidad aproximadamente a los 40 días post concepción (Uffo y Acosta, 2009), con posterior reabsorción embrionaria. Por este motivo DUMPS podría ser responsable de múltiples fallas en la concepción en las que no se llega al diagnóstico. (Kotzé et al., 1994).

La muerte embrionaria temprana y reabsorción durante los primeros dos meses de gestación, prologa el número de servicios requeridos y el intervalo parto – concepción (Kumar et al., 2010). El efecto producido en las vacas es una elevada tasa de retorno al servicio (síndrome de “vaca repetidora”) (Ağaoğlu et al., 2015; Uffo y Acosta, 2009;). Este síndrome implica una vaca o vaquilla clínica sana con ciclos estrales regulares, que fracasa luego de tres o más servicios. Los apareamientos entre animales portadores requieren un promedio de 3.1 servicios por nacimiento de un ternero frente a 2.0 servicios en cruzamientos de animales normales (Llambí, 2002). A su vez, los portadores, muestran una reducción de casi el 50% de la actividad de la enzima UMPS en riñón, bazo, hígado, músculo y glándula mamaria (Uffo y Acosta., 2009).

2.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD

Para el diagnóstico de la enfermedad se ha implementado la técnica de PCR-RFLP con la enzima *Ava I*, y una electroforesis de los fragmentos en gel de agarosa (Vătăşescu et al., 2006). Recientes avances se han implementado en nuestro medio para el diagnóstico a través de la técnica PCR en tiempo real seguida de un análisis HRM (*High Resolution Melting*), que demostró diferencias sustanciales con respecto a otras técnicas de screening (SSCP, DGGE, DHPLC, etc.), siendo un método simple, accesible y rápido para la detección de variantes genómicas del gen UMPS (Federici et al, 2015; Federici et al., 2018). Como resultado del análisis HRM, se obtienen curvas de alta resolución que permiten discriminar individuos homocigotas dominantes de portadores.

CAPÍTULO 3: CMV (Complejo de malformación vertebral)

3.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES

Descrita en Dinamarca en octubre de 2000 en terneros Holstein Friesian, el complejo de malformación vertebral (OMIA 001340 – 9913) es un desorden autosómico recesivo que afecta el periodo de desarrollo embrionario, produciendo abortos o muerte perinatal asociada a anormalidades esqueléticas (Meydan et al., 2010). Algunos trabajos revelan que la tasa de mortalidad fetal antes del día 260 de gestación es aproximadamente del 77% (Nielsen et al., 2003).

En 2001, los investigadores del Instituto Danés de Ciencias de la Agricultura identificaron el gen y la mutación causante de la enfermedad (Uffo y Acosta, 2009). Posteriormente fue reportado en Estados Unidos, Reino Unido, Holanda, Japón, Alemania, Suecia, Dinamarca, Polonia, Irán, Republica Checa e India (Kotikalapudi, Patel, Sunkara y Roy, 2013; Meydan et al., 2010; Thomsen et al., 2006).

El gen y la mutación pudieron ser identificados (Kelly et al., 2012), y su origen fue rastreado hasta el toro norteamericano de elite Carlin – M Ivanhoe Bell (US 1667366), el mismo portador de BLAD utilizado extensivamente en programas de ganadería durante dos décadas, por la excelente performance en producción láctea de sus hijas (Meydan et al., 2010; Uffo y Acosta, 2009). Toros descendientes de Carlin M – Ivanhoe Bell han sido empleados en la cría de ganado a nivel mundial durante 30 a 40 años (Nagahata et al., 2009). Su padre, Penstate Ivanhoe Star (USA 1441440), nacido el 20 de enero de 1963, era también portador de BLAD y CMV (Kotikalapudi, et al., 2013; Uffo y Acosta, 2009).

Desde el descubrimiento de este defecto y el inicio de los test moleculares, los toros portadores de este desorden fueron designados con la nomenclatura CV, y toros libres o sanos han sido denominados TV, como referencia para su uso en inseminación artificial en los registros de pedigree y catálogos de semen (Nagahata et al., 2009; Uffo y Acosta, 2009).

3.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DEL COMPLEJO DE MALFORMACION VERTEBRAL

Está producida por una mutación puntual en el gen SLC35A3 (tercer miembro de la familia de transportadores de soluto 35 bovino), localizado en el cromosoma BTA3 bovino (Meydan et al., 2010). Una transversión de guanina a tiamina (G → T) ha sido localizada en el alelo afectado, en posición 559 del gen.

Este gen codifica para el transportador de la UDP - N - acetilglucosamina y la mutación causa la sustitución de una valina por fenilalanina en la posición 180 de la proteína (c.V1807), alterando su función de transporte de membrana (Agerholm y Peperkamp, 2007; Kotikalapudi et al., 2013; Uffo y Acosta, 2009), dando lugar a un polipéptido ilegítimo. La mutación está localizada en la posición 43.412.427 bp del cromosoma 3 (VanRaden, Olson, Null y Hutchison, 2011).

El transportador de la UDP - N - acetilglucosamina se encarga del traslado de nucleótidos desde el citosol al aparato de Golgi para ser utilizados como sustrato en la glicosilación de proteínas, lípidos y proteoglicanos. Los mecanismos moleculares que controlan la formación de las vértebras y costillas dependen de la modificación de los carbohidratos en el aparato de Golgi (Kumar, 2015). Por esta razón, animales afectados por esta mutación tienen alteraciones en la biosíntesis y actividad biológica de moléculas como: heparan sulfato, keratan sulfato y ácido hialurónico, por contener residuos de N- acetilglucosamina (Thomsen et al., 2006).

El gen SLC35A3 juega un importante rol en el desarrollo del esqueleto axial de los vertebrados, el cual deriva de somites generados de la segmentación del mesodermo. Estos somites se diferencian en vértebras y costillas, con una identidad morfológica única que determina la posición que ocupan en el eje axial (Kumar, 2015; Thomsen et al., 2006).

Chu et al. (2010) estudiaron 38 toros Holstein Friesian de elite en Beijing, China, detectando 4 de ellos como portadores de la enfermedad. La presencia de la mutación en asociación al valor de cría para caracteres de performance productiva de estos toros (persistencia de lactación, score de células somáticas, etc.), demostró diferencias significativas entre libres y portadores (CV). El autor

señala una vinculación con un QTL o gen asociado con la producción de leche en BTA3.

3.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD

Muchos fetos afectados son abortados alrededor del día 159 de gestación mientras que otros nacen prematuramente y usualmente muertos. También se produce mortalidad intrauterina durante todo el periodo de la gestación, con un aumento en la tasa de retorno al celo y reducción de producción de leche (Uffo y Acosta, 2009; Wang et al., 2012). Este es uno de los factores críticos involucrados en las altas tasas de aborto registradas en China, dado que algunos portadores de CVM han sido usados en forma extensiva en dicho país (Wang et al., 2012).

Los hallazgos de necropsia demuestran variaciones en la apariencia fenotípica de terneros afectados por CMV, las cuales indican una expresión variable del genotipo. En forma genérica, las malformaciones del esqueleto axial están dentro de los defectos congénitos más comúnmente hallados: agenesia de vértebras caudales, torticolis, escoliosis, xifosis y espina bífida (Agerholm, Bendixen, Andersen y Arnbjerg, 2001).

Las malformaciones vertebrales, principalmente a nivel de la unión cérico - torácica (Meydan et al., 2010), se deben a la fusión de las últimas vértebras cervicales y distorsión de las primeras vertebrales torácicas (hemivértebras), que se visualizan por una ligera escoliosis en cada punto y acortamiento del cuello (Agerholm et al., 2001; Uffo y Acosta, 2009).

Otros hallazgos de necropsia documentados por Agerholm et al. en el año 2001 comprenden espacios intercostales heterogéneos, malformaciones de las articulaciones femorotibiorrotulianas, contracción y rotación bilateral y simétrica de las articulaciones del carpo y tarso, flexión de las articulaciones metacarpo - falangianas, rotación lateral de falanges, desviación y contracción de pezuñas. Adicionalmente, enanismo proporcionado y artrogriposis de miembros anteriores y posteriores también fueron documentados (Nielsen et al., 2003).

También fueron hallados defectos del septo interventricular, de grandes vasos e hipertrofia miocárdica (Angerholm et al., 2001; Nielsen et al., 2003). Las anomalías cardíacas ocurren en el 50% de los casos (Uffo y Acosta, 2009).



Figura 2: CMV en ternero Holstein Friesian nacido el día 272 de gestación. La longitud de la columna vertebral es reducida, debido a la malformación de vertebrae cérvico – torácicas. La parte distal de las extremidades presenta artrogriposis, falanges del miembro anterior levemente rotadas. Peso corporal reducido (20 kg). (Tomado de Windsor y Agerholm, 2009).



Figura 3: Ternero afectado por el CMV. Tomado de <http://www.arcangelogentile.it/Genetic%20Disease/CVM.aspx> (consultado el 18/11/2022)

3.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD

La prevalencia de la enfermedad era muy alta en los comienzos debido a la carencia de métodos diagnósticos para su identificación. Dado que la mutación puntual en el gen SLC35A3 no crea ni anula ningún sitio de restricción, no se puede identificar directamente por el método RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Alyethodi et al., 2018).

Alyethodi et al. (2018) utilizaron el PCR-PIRA (*Primer Introduced Restriction Analysis*), como método diagnóstico. Otras técnicas tales como PCR alelo – específico (AS-PCR) (Gábor et al., 2012), PCR polimorfismo de conformación de cadena simple (Ruśc y Kamiński, 2007), genotipado a tiempo real utilizando sondas alelo específicas (Zhang et al., 2012), y genotipado con 50K customized microarray (Federici et al., 2019), también fueron propuestas como alternativa.

El uso de curvas de disociación de alta resolución (HRM) fue presentado como método diagnóstico por Wittwer (2009), que lo definió como una técnica simple, rápida y económica, para detectar mutaciones genéticas conocidas (Hung et al., 2008), y desconocidas (Rapado, Grande y Albizua, 2009). El método HRM ha sido ampliamente utilizado para screening y detección de mutaciones, tanto en humanos (Vorkas, Christopoulos, Kroupis y Lianidou, 2010; Vossen, Aten, Roos, y den Dunenn, 2009), como en animales (Federici et al., 2018; Gábor et al., 2012; Gábor, Trakovická, Miluchová, y Kleknerová, 2012). A nivel nacional, esta técnica fue utilizada por Branda Sica, Nicolini, Federici y Llambí, (2019), permitiendo el diagnóstico de los animales mediante la comparación de la temperatura de melting de los amplicones generados por PCR.

CAPÍTULO 4: SINDROME BRAQUIESPINA

4.1. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES

El síndrome braquiespina (OMIA 000151 - 9913) es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva, reconocida recientemente como malformación congénita en terneros Holstein Friesian.

En los años 2006 y 2007 se publicaron los primeros casos de terneros afectados por braquiespina diagnosticados en Dinamarca, Holanda e Italia (Agerholm, McEvoy, y Arnbjerg, 2006). Posteriormente, en 2010, se detectó un nuevo caso en Canadá. Desde marzo 2011, la Holstein Association USA la incluye en el listado de genes recesivos no deseados (Fuentes et al., 2011).

Inicialmente, cuando se desconocía la causa de la enfermedad, los animales afectados eran sometidos a análisis para diagnóstico de Diarrea Viral Bovina y *Neospora caninum*, con resultados negativos (Fuentes et al., 2011).

A través de pruebas de ADN y genotipado se comprobó que en todos los terneros afectados sus progenitores estaban emparentados entre sí por un ascendiente común. El origen de esta enfermedad parece remontarse, según investigaciones de la CRV (Cooperative Cattle Improvement Association), al toro Sweet Heaven Tradition (USA M0001682485) y a sus hijos Bis – May Tradition Cleitus (USA M0001879085) y Rothrock Tradition Leadman (USA M0001983348) (Fuentes et al., 2011).

En las bases de datos y catálogos de acceso público, la sigla BY es utilizada para identificar a los animales portadores, mientras que individuos sanos se reconocen como TY.

4.2. BASE GENÉTICA Y FISIOPATOLOGÍA DE BRAQUIESPINA

El síndrome braquiespina es causado por una delección de 3,3 kb en el gen *FANCI* (fanconi anemia complementation group) (Charlier et al., 2012), ubicado en el cromosoma bovino 21 (BTA21). De los 37 exones que componen el gen *FANCI*, la delección remueve los exones 25 al 27, llevando a una sustitución de 451 aminoácidos carboxiterminales por un péptido incorrecto de 26 residuos y un codón stop prematuro en el exón 28 (Fang et al., 2013; Li et al., 2016).

El gen *FANCI* cumple un rol fundamental en los mecanismos de reparación del ADN, resultando esencial para corregir los errores que ocurren en el genoma. En humanos, los pacientes con delección del gen *FANCI* presentan síntomas diversos, incluyendo retraso en el crecimiento, anomalías esqueléticas, malformaciones renales, cardíacas, gastrointestinales y reproductivas (que recuerdan a la braquiespina bovina), así como insuficiencia de la médula ósea, aparición temprana de cáncer y mortalidad prematura (Charlier et al., 2012).

4.3. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD

Como consecuencia de esta enfermedad, se registra mortalidad embrionaria, fetal o, en su defecto, nacimiento de terneros con deformidades esqueléticas que los hacen no viables (Artigas et al., 2020; Charlier et al., 2012; Federici et al., 2021; Romero, Artigas y Llambí, 2014;). Los terneros que nacen, lo hacen luego de un periodo de gestación más prolongado del habitual (Windsor y Agerholm, 2009).

Las primeras necropsias fueron documentadas en el año 2007 por Agerholm y Peperkamp. Se hallaron variaciones fenotípicas, observables por la severidad de las malformaciones vertebrales, así como por la gravedad de los defectos presentes en órganos internos, en detalle en la tabla 1 (Agerholm y Peperkamp, 2007).

El síndrome se caracteriza por severa reducción de peso vivo (10 kg.), acompañada de braquignatismo inferior y malformación de órganos internos: defectos cardíacos, atresia intestinal y displasia renal (Windsor y Agerholm,

2009), y de gónadas (Charlier et al., 2012; Agerholm y Peperkamp, 2007). A su vez, se registra retardo en el crecimiento, malformaciones vertebrales que llevan a un acortamiento de la columna vertebral (de ahí su nombre), y miembros largos y delgados, como se observa en las figuras 2 y 3 (Charlier et al., 2012).

Tabla 1: Resumen de lesiones y malformaciones presentes en el síndrome braquiespina

SISTEMA AFECTADO	HALLAZGOS A LA NECROPSIA
Génito - urinario	Hipoplasia renal. Aplasia / hipoplasia de gónadas. Hipoplasia de vejiga urinaria. Cristales intraluminales en túbulos renales. Fibrosis periductal.
Cardiovascular	Defectos del septo interventricular cardiaco. Dextro posición de la aorta. Fusión de aorta con arteria pulmonar. Hidrotórax. Hidropericardio. Corazón redondeado. Dilatación del ventrículo derecho. Hipertrofia miocárdica derecha. Cardiomegalia.
Gastrointestinal	Agenesia de colon descendente en la entrada de cavidad pelviana. Segmento preestenótico colónico dilatado por meconio, segmento postestenótico contiene mucus. Volumen de cavidad abdominal reducido. Hepatomegalia. Dilatación de vena centrolobulillar y sinusoides. Fibrosis en área portal. Hemosiderosis hepática. Hiperplasia de conductos biliares.
Osteoarticular	
Axial	Volumen de cavidad torácica reducida. Espacios intercostales no mantienen paralelismo entre ellos. Menor número de costillas. Sinostosis costal. Braquignatismo inferior. Deformación del cráneo. Orejas desplazadas caudoventralmente. Cuerpos vertebrales desorganizados, con trabéculas cartilaginosas irregulares. Ausencia de discos intervertebrales. Hemivértebras. Escoliosis en unión tóraco-lumbar. Apófisis espinosas de vértebras torácicas con malformaciones y sinostosis. Acortamiento de columna cérvico-torácica.
Apendicular	Huesos alargados y delgados. Placas epifisarias y cartilago subarticular ensanchados.
Respiratorio	Volumen pulmonar reducido. Atelectasia.
Nervioso	Dislocación y compresión del cerebelo. Hernia de cerebelo y de médula oblonga a través del foramen magnum.

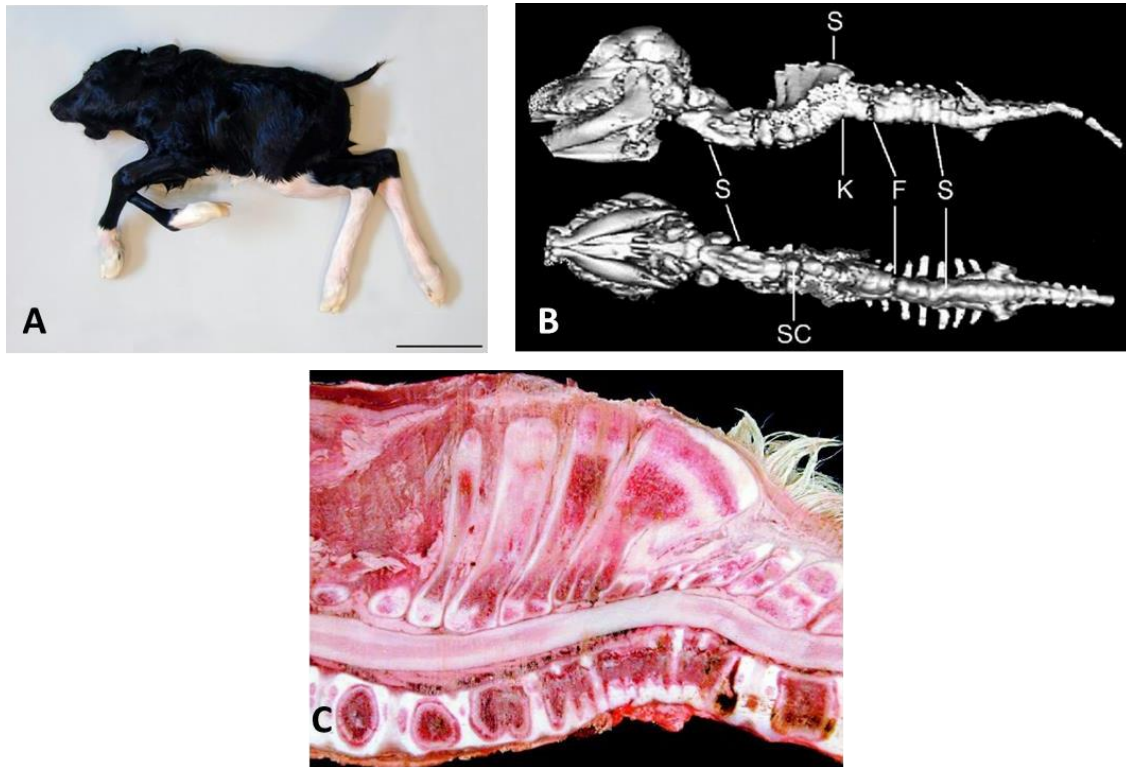


Figura 4. Diferentes hallazgos en terneros con Braquiespina. **A)** Ternero Holstein danés con acortamiento de columna vertebral, y prominencia de apófisis espinosas torácicas, braquignatismo y miembros largos y delgados. Barra de referencia: 15 cm. **B)** tomografía computarizada de cráneo y columna vertebral. En columna cervical (C2-C6) y lumbar se observan sinostosis (S) de cuerpos vertebrales. Caudal a T3 grandes sinostosis (S) que se observan fácilmente por las apófisis espinosas dorsales. Xifosis (K) en columna torácica caudal. Escoliosis (SC) en columna torácica y fractura (F) en unión tóraco-lumbar. **C)**, sección de columna torácica con múltiples malformaciones vertebrales (Tomadas de Agerholm, McEvoy y Arnbjerg, 2006; Agerholm y Peperkamp, 2007).

4.4. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD

En mayo de 2011, investigadores de la Universidad de Copenhague (Dinamarca) y Lieja descubrieron y patentaron la secuencia que contiene la mutación genética de la enfermedad, y desarrollaron un test de ADN para el análisis específico de la mutación responsable de braquiespina, como forma de identificar a los animales portadores con 100% de confiabilidad (Fuentes et al., 2011).

El test diagnóstico descrito consiste en una amplificación por PCR a tiempo final de un fragmento del gen *FANCI* que contiene la mutación, seguido de una electroforesis en gel de agarosa. Mediante esta técnica puede asignarse el genotipo al animal como libre (TY) o portador (BY) de la enfermedad.

Recientemente en nuestro país, se ha desarrollado una técnica de diagnóstico, utilizando el PCR en tiempo real basada en el análisis de las curvas de temperatura de melting. La técnica demostró ser más rápida y sensible que la técnica originalmente desarrollada para el diagnóstico de la enfermedad (Federici et al., 2018).

Por todo lo anteriormente expuesto, y dada la importancia económica de los defectos genéticos que producen mortalidad embrionaria, fetal, o perinatal en los bovinos, el objetivo de esta tesis es determinar la prevalencia de las enfermedades BLAD, DUMPS, CMV y SB en toros Holstein Friesian (nacionales e importados) utilizados en el programa de evaluación genética de la raza Holstein Friesian en Uruguay.

A continuación, se muestra una tabla a modo de resumen con las principales características de BLAD, DUMPS, CMV y SB.

Tabla 2: Descripción de BLAD, DUMPS, CVM y SB en bovinos de raza Holstein Friesian,

Enfermedad hereditaria (abreviación OMIA)	Sistema afectado	Síntomas clínicos	Simbología utilizada en los catálogos de reproductores
Deficiencia de adhesión leucocitaria bovina (BLAD, 000595-9913)	Hemopoyético	Bajas defensas inmunitarias. Fiebre alta. Diarrea crónica. Enteritis. Neumonías. Gingivitis. Infecciones bacterianas recurrentes. Mueren a los 2-8 meses de nacidos.	BL: portador de BLAD; TL: libres de la enfermedad.
Braquiespina (HH0, 000151-9913)	Esquelético/ Reproductivo	Desarrollo incompleto de vértebras y órganos internos. Abortos a los 40 días de preñez o nacen muertos	BY: portador de Braquiespina; TY: libre de la enfermedad
Malformación vertebral compleja (CVM, 001340-9913)	Esquelético/ Reproductivo	Malformación vertebral y de extremidades. Retraso en crecimiento. Artrogriposis. Malformación del tracto digestivo y corazón. Abortos y nacimientos prematuros.	CV: portador de CVM; TV: libre de la enfermedad
Deficiencia de uridina monofosfato sintasa (DUMPS, 000262-9913)	Reproductivo/ Metabólico	Desarrollo incompleto. Vacas portadoras con alta incidencia de retorno a celo. Aumento de ácido orótico en la leche y orina. Abortos a los 40 días de preñez.	DP: Portador de DUMPS; TD: libre de la enfermedad

Tomado y adaptado de Branda Sica et al., 2018 (Monitoreo de enfermedades hereditarias utilizando técnicas de diagnóstico molecular en ganado Holstein Friesian uruguayo).

CAPÍTULO 5: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5.1. HIPOTESIS

Existen portadores de BLAD, DUMPS, CMV y SB en toros de inseminación nacionales e importados utilizados en los programas de evaluación genética de la raza Holstein Friesian en Uruguay.

5.2. OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de las enfermedades BLAD, DUMPS, CMV y SB en toros Holstein Friesian (nacionales e importados) utilizados en el programa de evaluación genética de la raza Holstein Friesian en Uruguay.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar la condición genética (portador o normal) para BLAD, DUMPS, CMV y SB en los toros de inseminación disponibles en el catálogo de padres de evaluaciones genéticas lecheras de Uruguay.
- 2) Evaluar la condición genética (portador o normal) para BLAD, DUMPS, CMV y SB en los toros de inseminación disponibles anualmente desde 2016 a 2022.

CAPÍTULO 6: MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. MATERIALES

Se analizaron los registros de 3028 toros Holstein Friesian del catálogo de padres del año 2021, publicado por Evaluaciones genéticas lecheras, disponible en el sitio web: <https://www.geneticalechera.com.uy/>. Adicionalmente, se analizaron registros de toros activos pertenecientes a los catálogos de semen lechero disponibles para nuestro país desde el año 2016 al 2022, publicados por la institución de Mejoramiento y Control Lechero Uruguayo (<http://www.mu.org.uy/>). Tanto el catálogo de padres como los de semen lechero, son material de acceso libre al público.

6.2. MÉTODOS

Cada toro fue estudiado utilizando las bases de datos de dominio público: ABS Global Bull Search (<https://bullsearch.absglobal.com/es/bull/getbulls/breed/1>), DairyNZ (<https://www.dairynz.co.nz/>) y World Wide Sires (<http://wwsires.com/>), determinando a través de los códigos internacionales si es libre o portador de BLAD, DUMPS, CMV y SB.

Se confeccionó un listado en planilla Excel en la que se documentaron: nombre del toro, código de pajuela, condición de normal o portador, procedencia y número de hijas en el sistema de evaluación genética nacional, si las tiene. Se calculó la proporción de animales normales, portadores y sin información declarada. En base a los animales que presentaron información, se calculó la proporción de animales portadores. Por un volumen de datos, las tablas para cada enfermedad correspondientes al semen que ingresó anualmente, se presentaron cada dos años.

CAPÍTULO 7: RESULTADOS

A partir del análisis de los registros de toros Holstein Friesian del catálogo de padres de las evaluaciones genéticas lecheras, advertimos que, la mayoría de la contribución genética provino de Estados Unidos, Uruguay y Canadá (88 %, n=2679) (figura 5).

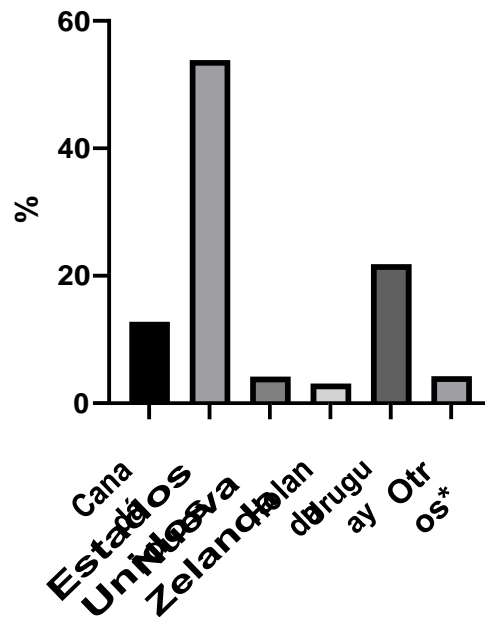


Figura 5. Procedencia de los toros del catálogo de padres de las evaluaciones genéticas lecheras. Otros: Alemania, Argentina, Australia, Bélgica, Dinamarca, España, Francia, Gran Bretaña, Italia, Polonia, Suecia.

De los 3028 toros analizados, un 65% (n= 1981), contaba con test genético registrado para BLAD, 25% (n=742) para DUMPS, 51% (1542) para CMV y 22% (n= 670) para SB (Tablas 3, 4, 5 y 6 respectivamente). De estos, un 0.8% (n=17) fueron portadores de BLAD, 0% fueron portadores de DUMPS, 3.7% (n=58) fueron portadores de CMV y 4.6% (n=31) fueron portadores de SB (Tablas 3, 4, 5 y 6 respectivamente).

La procedencia de animales portadores para las cuatro enfermedades estudiadas se ve sobrerrepresentada por Estados Unidos y Canadá (Tablas 3, 4, 5 y 6). Al evaluar la descendencia de los toros en Uruguay, se observaron 1599 hijas de toros portadores de BLAD (tabla 3), ninguna para DUMPS (tabla

4), 5483 para CMV (tabla 5) y 2463 hijas para SB (Tabla 6), incluidas en el sistema de evaluación genética nacional. Un 29% de los toros no presentó información declarada para ninguna de las cuatro enfermedades.

Tabla 3. Condición genética para el BLAD de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia

País	Animales (total)	Animales SD**	Test genético (%/n)	TL ^b	BL ^ψ	Hijas de toros BL
Canadá	387	80	79% (307)	305	2	391
Estados Unidos	1632	181	89% (1451)	1436	15	1208
Nueva Zelanda	127	7	94% (120)	120	0	0
Holanda	93	43	54% (50)	50	0	0
Uruguay	661	657	0.6% (4)	4	0	0
Otros*	128	79	38% (49)	49	0	0
Total	3028	1047	65% (1981)	1964	17	1599

*Otros: Alemania, Argentina, Australia, Bélgica, Dinamarca, España, Francia, Gran Bretaña, Italia, Polonia, Suecia. **SD: Sin datos. ^bAnimales normales. ^ψAnimales portadores

Tabla 4. Condición genética para el DUMPS de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia

País	Animales (total)	Animales SD**	Test genético (%/n)	TD ^b	DP ^ψ	Hijas de toros DP
Canadá	387	318	17% (69)	69	0	0
Estados Unidos	1632	975	40% (657)	657	0	0
Nueva Zelanda	127	127	0% (0)	0	0	0
Holanda	93	86	7,5% (7)	7	0	0
Uruguay	661	658	0,5% (3)	3	0	0
Otros*	128	122	4,7% (6)	6	0	0
Total	3028	2286	25% (742)	742	0	0

*Otros: Alemania, Argentina, Australia, Bélgica, Dinamarca, España, Francia, Gran Bretaña, Italia, Polonia, Suecia. **SD: Sin datos. ^bAnimales normales. ^ψAnimales portadores

Tabla 5. Condición genética para el CMV de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia

País	Animales (total)	Animales SD**	Test genético (%/n)	TV ^b	CV ^ψ	Hijas de toros CV
Canadá	387	178	54% (209)	209	0	0
Estados Unidos	1632	515	68% (1117)	1063	54	5296
Nueva Zelanda	127	11	91% (116)	113	3	67
Holanda	93	45	51% (48)	47	1	120
Uruguay	661	661	0% (0)	0	0	0
Otros*	128	76	40% (52)	52	0	0
Total	3028	1486	51% (1542)	1484	58	5483

*Otros: Alemania, Argentina, Australia, Bélgica, Dinamarca, España, Francia, Gran Bretaña, Italia, Polonia, Suecia. **SD: Sin datos. ^bAnimales normales. ^ψAnimales portadores

Tabla 6. Condición genética para el SB de los toros utilizados como padres en los sistemas de evaluación genética lechera de Uruguay hasta el año 2021, según país de procedencia

País	Animales (total)	Animales SD**	Test genético (%/n)	TY ^b	BY ^ψ	Hijas de toros BY
Canadá	387	275	29% (112)	101	11	765
Estados Unidos	1632	1115	32% (517)	497	20	1698
Nueva Zelanda	127	127	0% (0)	0	0	0
Holanda	93	75	19% (18)	18	0	0
Uruguay	661	661	0% (0)	0	0	0
Otros*	128	105	18% (23)	23	0	0
Total	3028	2358	22% (670)	639	31	2463

*Otros: Alemania, Argentina, Australia, Bélgica, Dinamarca, España, Francia, Gran Bretaña, Italia, Polonia, Suecia. **SD: Sin datos. ^bAnimales normales. ^ψAnimales portadores

En cuanto a las evaluaciones de catálogos de semen lechero disponible entre los años 2016 a 2022 para Uruguay, observamos que, mayoritariamente, la contribución genética a rodeo Holstein Friesian provino de Estados Unidos, Canadá y Nueva Zelanda (Tabla 7). Al evaluar la proporción de toros con test diagnóstico para BLAD, DUMPS, CMV y SB y el número de toros portadores (BL, DP, CV y BY, respectivamente), se advierte que, a medida que aumenta el número de animales con test diagnóstico, hubo una reducción en el ingreso de

toros portadores de BY al país (figura 6). La evolución de los portadores para BLAD, DUMPS y CMV permanece estable, no detectándose portadores.

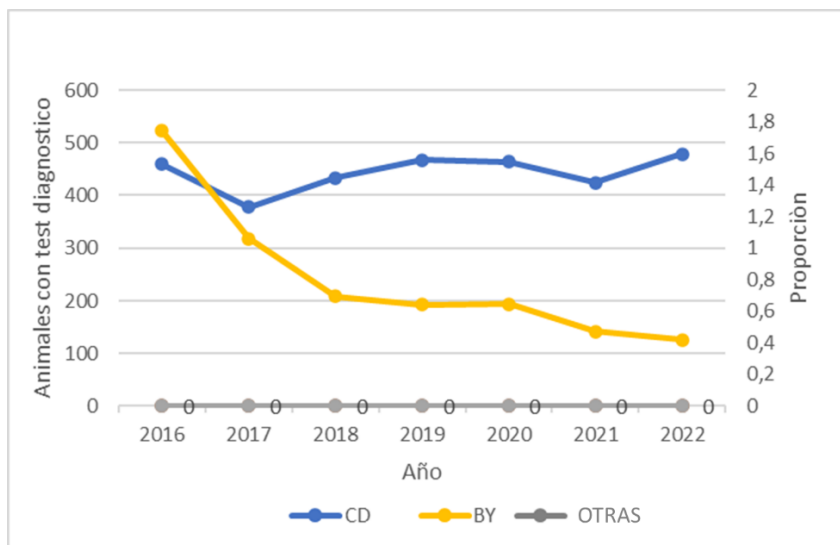


Figura 6: Ingreso de semen de toros con test diagnóstico (CD) (%) y portadores (BY) (n) a Uruguay. Evolución entre los años 2016 y 2022. Otras: toros portadores de BLAD, CMV y DUMPS.

En el análisis de los catálogos de semen de Mejoramiento Genético disponibles para Uruguay de los años 2016, 2018, 2020 y 2022, se observa un comportamiento al alza de animales sin datos en países como Uruguay y Holanda, para las cuatro enfermedades estudiadas, al contrario de Canadá, donde el porcentaje de toros sin datos disminuye (tablas 7, 8, 9 y 10).

Tabla 7: Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (BLAD)

País	2016			2018			2020			2022		
	N	SD* (%)	BL ^ψ	N	SD* (%)	BL ^ψ	n	SD* (%)	BL ^ψ	N	SD* (%)	BL ^ψ
Canadá	91	13	0	44	2.3	0	25	0	0	59	3.4	0
Estados Unidos	275	2	0	294	0.68	0	319	2.2	0	334	3.3	0
Nueva Zelanda	56	3.6	0	70	10	0	65	12	0	71	9.9	0
Holanda	35	51.4	0	24	75	0	23	52	0	30	60	0
Uruguay	9	67	0	3	100	0	11	64	0	8	88	0
Otros**	29	38	0	27	26	0	85	66	0	109	85	0

*Sin datos. ^ψAnimales portadores. **Otros: Alemania, Australia, Dinamarca, España, Francia, Reino Unido, Italia, Suecia.

Tabla 8: Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (DUMPS)

País	2016			2018			2020			2022		
	n	SD* (%)	DP ^ψ	N	SD* (%)	DP ^ψ	n	SD* (%)	DP ^ψ	N	SD* (%)	DP ^ψ
Canadá	91	25	0	44	11.3	0	25	8	0	59	3.4	0
Estados Unidos	275	11	0	294	7.5	0	319	6.9	0	334	5.4	0
Nueva Zelanda	56	100	0	70	100	0	65	94	0	71	96	0
Holanda	35	69	0	24	100	0	23	100	0	30	100	0
Uruguay	9	67	0	3	100	0	11	64	0	8	88	0
Otros**	29	69	0	27	70.3	0	85	78	0	109	90	0

*Sin datos. ^ψAnimales portadores. **Otros: Alemania, Australia, Dinamarca, España, Francia, Reino Unido, Italia, Suecia.

Tabla 9: Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (CMV)

País	2016			2018			2020			2022		
	n	SD* (%)	CV ^ψ	n	SD* (%)	CV ^ψ	n	SD* (%)	CV ^ψ	n	SD* (%)	CV ^ψ
Canadá	91	25	0	44	2.3	0	25	0	0	59	3.4	0
Estados Unidos	275	5	0	294	1	0	319	2.8	0	334	6,6	0
Nueva Zelanda	56	5.3	0	70	7	0	65	9.2	0	71	11.2	0
Holanda	35	54.3	0	24	71	0	23	48	0	30	60	0
Uruguay	9	100	0	3	100	0	11	100	0	8	100	0
Otros**	29	41.3	0	27	48	0	85	71	0	109	85	0

*Sin datos. ^ψAnimales portadores. **Otros: Alemania, Australia, Dinamarca, España, Francia, Reino Unido, Italia, Suecia.

Tabla 10: Semen lechero disponible para Uruguay en los años 2016, 2018, 2020 y 2022 (SB)

País	2016			2018			2020			2022		
	n	SD* (%)	BY ^ψ	n	SD* (%)	BY ^ψ	n	SD* (%)	BY ^ψ	n	SD* (%)	BY ^ψ
Canadá	91	21	3	44	9	1	25	4	1	59	3.4	0
Estados Unidos	275	2	5	294	1,4	1	319	2,8	1	334	6.9	2
Nueva Zelanda	56	100	0	70	100	0	65	82	0	71	92	0
Holanda	35	54.3	0	24	83	1	23	52	1	30	60	0
Uruguay	9	100	0	3	100	0	11	100	0	8	100	0
Otros**	29	38	0	27	63	0	85	71	0	109	85	0

*Sin datos. ^ψAnimales portadores. **Otros: Alemania, Australia, Dinamarca, España, Francia, Reino Unido, Italia, Suecia.

Estados Unidos demuestra un comportamiento al alza de toros sin datos para SB. En los toros que se encuentran bajo el ítem “Otros” se aprecia un incremento notorio de los animales sin datos para BLAD, DUMPS, CMV y SB, siendo su contribución importante en el acervo genético del país.

CAPITULO 8: DISCUSIÓN

El catálogo de padres de la raza Holstein Friesian de las evaluaciones genéticas lecheras, actualizado al año 2021, incluye a todos los toros nacidos entre 1964 y 2018 que tienen al menos una hija evaluada genéticamente en Uruguay para diferentes caracteres de producción de leche. Del análisis de este catálogo se desprende que la mayor contribución genética al rodeo lechero uruguayo proviene de Estados Unidos, Uruguay y Canadá (Fig. 5), tal como fue observado en trabajos anteriores (Artigas et al., 2020). Al considerar el semen disponible de la raza entre los años 2016 y 2022, la situación se mantiene para Estados Unidos y Canadá, siendo la genética de Nueva Zelanda la tercera en importancia (Tabla 7).

Para el caso particular del BLAD se observó que, de un total de 3028 animales, un 65% presentaba test genéticos ($n=1981$). De estos últimos, 17 toros fueron portadores de la enfermedad (BL), lo que representa un 0.87% de la totalidad de toros con test disponible. Estos animales tuvieron 1599 hijas (Tabla 3). Dado que la enfermedad presenta un modo de herencia autosómico recesivo, es de esperar que al menos el 50% ($n=800$) de las mismas sean portadoras. Como las hijas fueron evaluadas para diferentes características de producción de leche, necesariamente debieron dejar descendencia, por lo que el alelo responsable del BLAD se encuentra circulando en el rodeo comercial nacional, tal como lo han demostrado diferentes autores (Branda Sica et al., 2016; Briano et al., 2021; Llambí et al., 2003).

La proporción de toros portadores detectados en el catálogo de padres es menor a la observada en rodeos comerciales de Argentina (3.5% Poli et al., 1996), Brasil (2.8% Ribeiro, Baron, Martinez, y Coutinho, 2000), Dinamarca (13.4% Agerholm et al., 1993), Estados Unidos (5.8% Shuster et al., 1992), Japón (8.1% Nagahata et al., 1997), Turquía (4%, Nagahata et al., 1997) y Polonia (3% Natonek, 2000). Sin embargo, dicha proporción es mayor que la registrada en China (0,37%, Khan et al., 2021). A nivel nacional diferentes trabajos realizados anteriormente, encontraron frecuencias variables de animales portadores de BLAD. Llambí et al. (2003) detectaron una proporción de animales portadores de 7.2%, mientras que Branda Sica et al (2016) y Briano et al (2021) encontraron una proporción de 0.5% y 1.04% respectivamente. Estos resultados demuestran que la

frecuencia del alelo responsable de la enfermedad ha disminuido a lo largo del tiempo. Esto resulta concordante con los datos obtenidos en el relevamiento del semen disponible en Uruguay entre los años 2016 y 2022, dónde no se identificaron reproductores portadores de la enfermedad (Tabla 7).

En el caso de DUMPS, en el catálogo de padres de las evaluaciones genéticas lecheras, se observó que, de un total de 3028 animales, un 25% presentaba test genéticos (n=742), sin registrarse toros portadores de la enfermedad (DP) y, por ende, sin descendencia de éstos (Tabla 8). Al analizar el semen disponible ingresado a Uruguay entre los años 2016 y 2022 se observa un comportamiento similar, no encontrándose animales portadores de la enfermedad (Tabla 8). Este hallazgo es congruente con lo demostrado por diferentes autores que afirman que, en Uruguay, no hay reportes de la presencia de portadores de DUMPS desde el año 2002 (Kelly et al., 2010; Federici et al., 2015; Llambí et al., 2002). La proporción registrada en rodeos comerciales de Argentina (0.97% Poli et al., 1996), China (0.06% Sun et al., 2011) y Estados Unidos (1-2 % Shanks, 1990), es baja, mientras que en India (Patel et al., 2006), Irán (Eydivandi, Seyedabai y Amirinia, 2011; Rahimi, Nejati-Javaremi, y Olek, 2006; Rezaee et al., 2009), Pakistán (Rahimi et al., 2006), Polonia (Kamiński et al., 2005), Republica Checa (Citek, Rehout, Hajkova, y Pavkova, 2006), Rumania (Vătăşescu et al., 2006) y Turquía (Ağaoğlu et al. 2015; Akyüz y Ertugrul, 2008; Meydan, Ozdil y Yildiz, 2006; Öner, Keskin y Elmaci, 2010), no se han detectado alelos mutantes para DUMPS.

Para el CMV se observó que, de un total de 3028 animales, un 51% (n=1542), contaba con test genéticos. De estos últimos, 58 toros fueron portadores de la enfermedad (CV), representando un 3.7% de la totalidad de reproductores con test disponible. Estos animales dejaron una descendencia de 5483 hijas (Tabla 5). Basándonos en el modo de herencia autosómico recesivo de esta enfermedad, se espera que al menos 2741 sean portadoras, permitiendo que el alelo recesivo se encuentre circulando en el rodeo comercial nacional, tal como lo han demostrado Branda Sica et al. (2019) y Briano et al. (2021).

La proporción de toros portadores detectados en el catálogo de padres es similar a la observada en rodeos comerciales de China (3.86% Sun et al., 2011) y Turquía (3.4% Meydan et al., 2010), aunque muy menor a la reportada en

Dinamarca (31% Agerholm y Peperkamp, 2007), Polonia (24.8% Ruśc y Kamiński, 2007), Japón (32,5% Nagahata et al., 2002), Suiza (23% Berglund, Persson y Stålhammar, 2004) y Alemania (13.2% Konersmann, Wemheuer y Brenig, 2003).

A nivel del rodeo nacional, trabajos realizados por Branda Sica et al. (2019) encontraron una frecuencia mayor (6.45%) a la observada en el catálogo de padres. Sin embargo, recientemente Briano et al. (2021) encuentran una frecuencia similar (2.09) a la comunicada en esta tesis. La diferencia entre los trabajos realizados en el país puede deberse a las estrategias de muestreo de los animales, ya que Branda Sica et al. (2019) utiliza vacas del rodeo comercial, y Briano et al., (2021) utiliza terneros nacidos en una sola generación. Esto último es importante si consideramos que desde el año 2016 la mayor parte del semen disponible ha demostrado ser libre de CMV. Además, los animales sin información declarada provenientes de los principales países que contribuyen al acervo genético (Estados Unidos, Canadá y Nueva Zelanda) apenas alcanzan el 11% (Tabla 9).

Finalmente, en caso de SB, de un total de 3028 animales, sólo un 22% (n=670), presentaba test genéticos. De estos, 31 toros fueron detectados como portadores de la enfermedad (BY), representando un 4.6% del total de toros con test disponible. Estos portadores procedían de Estados Unidos y Canadá, y tuvieron 2463 hijas (Tabla 6) incluidas en el sistema de evaluación genética uruguaya. Debido al modo de herencia autosómico recesivo, esperamos que al menos 1231 de ellas sean portadoras, permitiendo por tanto una circulación del alelo recesivo en los rodeos Holstein comerciales a nivel nacional, tal como fue demostrado recientemente (Artigas et al., 2020). Asimismo, el reproductor Rothrock Tradition Leadman (008HO02024), descendiente directo de Sweet Heaven Tradition, es uno de los portadores de BY utilizados a nivel nacional.

De lo anteriormente mencionado se desprende que la proporción de portadores de SB está subestimada, debido al alto número de animales sin información genética referida a esta enfermedad en las bases de datos de acceso público, estando incluido Uruguay y también Nueva Zelanda, con un 100% de animales sin test genéticos (Tabla 6).

El porcentaje de reproductores portadores revelados en el catálogo de padres es similar al reportado en China (4.9 % Fang et al., 2013). Proporciones más altas a las registradas en esta tesis fueron detectadas en Estados Unidos (6%, VanRaden et al., 2011), Holanda (7.4%, Charlier et al., 2012), Polonia (10.2% Ruśc y Kamiński, 2015) y Taiwan (12.21% Liaw, Chen, Wu y Chang, 2017). Recientes trabajos a nivel nacional (Artigas et al. 2020), detectaron una proporción de 7.4% de portadores en el rodeo comercial, superior a la registrada en este trabajo.

En el análisis de catálogos de semen disponible en Uruguay desde el año 2016 al 2022, se observa una reducción en el número de animales sin datos, particularmente, en el caso de Canadá, de 21% a 3.1% (Tabla 10). La situación inversa se presenta en Estados Unidos (2% a 6.9%), Holanda (54.3% a 60%), y el ítem “otros” (38% a 85%). El alza en el número de animales sin test diagnóstico en países como Estados Unidos es relevante dado que es el país donde presumiblemente se originó la mutación del SB (Fang et al., 2013). Nueva Zelanda tiende a reducir levemente el número de toros sin test genético disponible, de un 100% a un 92%. En caso de Uruguay, el 100% de los toros se presentan sin datos disponibles.

El aumento del número de toros con test genético para SB desde 2016 a 2022, se corresponde con una reducción en el ingreso de semen de animales portadores al país (Figura 6). Esta observación es importante, puesto que la implementación del genotipado de los toros a nivel internacional y la reducción en la comercialización del semen BY, impactan en los rodeos comerciales reduciendo la frecuencia del alelo deletéreo.

El análisis de los datos obtenidos en esta tesis permite reconocer el impacto que estas enfermedades tienen en el rodeo nacional, lo cual puede ser un punto de partida para establecer programas de detección molecular y control, así como análisis comparado de las frecuencias génicas de alelos mutantes a nivel local (para ver su evolución en el tiempo) y mundial.

La identificación de alelos letales o semiletal recesivos a través de métodos de diagnóstico molecular es relevante, debido a que permite distinguir terneros normales de portadores eliminándolos de la población (Alyethodi et al., 2018), o

seleccionando los apareamientos. En ese sentido, la técnica PCR-HRM ha resultado ser una herramienta eficiente en la detección de enfermedades genéticas en ganado Holstein Friesian, tanto en nuestro país para BLAD y DUMPS (Federici et al., 2018), en Rumania para BLAD (Ilie et al., 2014) y en Eslovaquia para el complejo de malformación vertebral (Gabór et al., 2012). Por ello, podría ser utilizada como método screening de rutina para múltiples desordenes genéticos (Branda Sica et al., 2018). Para el caso del SB se ha comunicado en el país un protocolo basado en plataformas de PCR a tiempo real, con costos reducidos y de rápido análisis, posible de ser implementado en programas de genotipado a gran escala (Federici et al., 2021)

Una observación interesante es la destacada por Branda Sica et al. (2018), que apunta al control de las enfermedades autosómicas recesivas como BLAD y no a su eliminación del rodeo Holstein Friesian. El ligamiento del gen mutante a características productivas de excelencia, tales como rendimiento lechero o eficiencia reproductiva, haría inviable su eliminación (Schütz, Scharfenstein, y Brenig, 2008). Por lo tanto, la estrategia más conveniente para el control de las enfermedades genéticas recesivas en los bovinos es el monitoreo exhaustivo para la detección de portadores y la implementación de apareamientos selectivos.

CAPÍTULO 9: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

- El análisis de catálogos oficia como método complementario de bajo costo y gran alcance, dado que podría realizarse un screening de todos los toros activos en la actualidad.
- En el presente trabajo se deja en evidencia la presencia de animales BL, CV y BY en el núcleo de evaluación genética de la raza Holstein Friesian del Uruguay. A pesar de registrarse una reducción en el ingreso de semen de animales portadores (2016-2022) para los alelos CV y BY, y una desaparición de toros BL, estos alelos persisten en el rodeo comercial nacional.
- La ausencia de toros portadores de DUMPS, así como la no detección del alelo mutante en los rodeos comerciales nacionales, reportado en la bibliografía, hace pensar que no es una causa mayormente importante de pérdidas embrionarias tempranas en el país.
- Resulta preocupante el número de toros sin datos acerca de su estatus genético para BLAD, DUMPS, CMV y SB. Principalmente todos los toros nacionales y en gran proporción los de Nueva Zelanda. La presencia de portadores en estos animales podría aumentar la frecuencia de los alelos responsables de estas enfermedades en el rodeo, contribuyendo a la mortalidad embrionaria temprana, fetal y perinatal en el país.

BIBLIOGRAFÍA

- Ağaoğlu, O.K., Ağaoğlu, A.R., y Saatci, M. (2015). Estimating allele frequencies of some hereditary diseases in Holstein cattle reared in Burdur Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39, 338-342.
- Agerholm, J.S. (2003). Effects of complex vertebral malformation on fertility traits in Holstein cattle. *Livestock Production Science*, 79, 233-238.
- Agerholm, J. S., Bendixen, C., Andersen, O., y Arnbjerg, J. (2001). Complex vertebral malformation in Holstein calves. *Journal of Veterinary Diagnostics Investigation*, 13, 283-289.
- Agerholm, J.S., Delay, J., Hicks B., y Fredholm, M. (2010). First confirmed case of the bovine brachyspina syndrome in Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 51(12), 1349-1350.
- Agerholm, J. S., Houe, H., Jørgensen, C. B., y Basse, A. (1993). Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency in Danish Holstein-Friesian Cattle: II. Patho-Anatomical Description of Affected Calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 34, 237-243.
- Agerholm, J. S., McEvoy, F., y Arnbjerg, J. (2006). Brachyspina syndrome in a Holstein calf. *Journal of Veterinary Diagnostics Investigation*, 18, 418-422.
- Agerholm, J. S., y Peperkamp, K. (2007). Familial occurrence of Danish and Dutch cases of the bovine brachyspina syndrome. *BMC Veterinary Research*, 3, 8.
- Akyüz, B., Sariözkan, S., y Bayram, D. (2015). The Prevalence of BLAD and comparison of some production parameters in carrier and non-carrier holstein cows in kayseri province, Turkey. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes*, 12(1), 31-35.
- Akyüz, B., y Ertugrul, O. (2008). Detection of deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) in Holstein and native cattle in Turkey. *Veterinary Journal of Ankara University*, 55, 57-60.

- Alyethodi, R. R., Kumar, S., Deb, R., Alex, R., Singh, U., Sharma, S., ... Birham, P. (2018). Using PCR-PIRA based genotyping for identifying complex vertebral malformation allele in Frieswal young bulls in India. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(62), 44-47.
- Artigas, R., Federici, M.T., Vázquez, N., Alcántara, M., Ramírez, M., Guerra, S., ... Llambí, S. (2020). Identificación por catálogo y detección molecular de bovinos Holstein portadores de braquiespina en Uruguay. *FAVE-Sección Ciencias Veterinarias*, 19, 50-54.
- Berglund, B., Persson, A., y Stålhammar, H. (2004). Effects of Complex vertebral malformation on fertility in swedish Holstein cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica* 45, 161-165.
- Branda Sica, A., Federici, M.T., Dutra, F., Briano, C., Romero, A., Dalla Rizza, M., y Llambí, S. (2018). Genotipado de SNPs relacionados con enfermedades hereditarias en terneras Holando utilizando el panel GGP-BovineLDv3. *Veterinaria (Montevideo)*, 54 (210- 2), 9-13.
- Branda Sica, A., Federici, M.T., Dutra, F., Romero, A., Briano, C., Dalla Rizza, M., y Llambí, S. (2016) Identificación de terneras Holando portadoras de BLAD y Citrulinemia en la región Este de Uruguay por PCR – RFLP y secuenciación. *Veterinaria (Montevideo)*, 52(202), 23- 27.
- Branda Sica, A., Nicolini, P., Federici, M.T., y Llambí, S. (2019). Identification of Holstein cows carriers of complex vertebral malformation by high resolution melting curves (HRM). *Archives of Veterinary Science*, 24, 62-70.
- Briano, C.R., Romero, A., Llambí, S., Branda Sica, A., Rodriguez, M. T. F., Giannitti, F., ... Quintela, F. D. (2021). Lethal and semi-lethal mutations in Holstein calves in Uruguay. *Ciência Rural*, 51, e20200734.
- Charlier, C., Agerholm, J. S., Coppeters, W., Karlskov-Mortensen, P., Li, W., de Jong, G., Fasquelle, C., ... Fredholm, M. (2012). A deletion in the bovine FANCI gene compromises fertility by causing fetal death andbrachyspina. *Plos One*, 7(8), e43085.

- Chu, Q., Zhang, Y., Sun, D.X., Yu, Y., Wang, Y.C., y Zhang, Y. (2010). Identification of the complex vertebral malformation gene in Chinese Holstein and its association with dairy performance traits. *Yi Chuan (Hereditas)*, 32(7), 732-736.
- Citek, J., Rehout, V., Hajkova, J., y Pavkova, J. (2006). Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*, 51, 333-339.
- Eydivandi, C., Seyedabai, H.R., y Amirinia, C. (2011). Identification of BLAD, DUMPS and CVM deficiency in Khuzestan Holstein cattle population of Iran. *Global Veterinaria*, 6(6), 519-524.
- Fang, L., Li, Y., Zhang, Y., Sun, D., Liu, L., Zhang, Y., y Zhang, S. (2013). Identification of brachyspina syndrome carriers in chinese Holstein cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(4), 508-510.
- Federici, M.T., Artigas, R., Branda Sica, A., Rogberg, A., Giovambatista, G., y Llambí, S. (2019) Screening and detection of recessive mutations in Uruguayan Holstein cattle. En *Plant & Animal Genome Conference XXVII*. San Diego, CA, USA.
- Federici, M.T., Artigas, R., Guerra, S., Branda Sica, A., Vazquez, N., Nicolini, P., ...Llambí, S. (2021). Detection of the Brachyspina mutation in Uruguayan Holstein cows using real time PCR and melting curve analysis. *Ciencia Rural (Santa María)*, 51, 9.
- Federici, M.T., Branda Sica, A., Artigas, R., Briano, C., Dutra, F., y Llambí, S. (2018). High resolution melting (HRM) curve analysis: new approach used to detect BLAD and DUMPS in uruguayan Holstein breed. *Archives of Veterinary Science*, 23(4), 1-9.
- Federici, M.T., Branda Sica, A., Briano, C., Romero, A., Llambí, S., Dalla Rizza, M., y Dutra, F. (2015). Identificación de portadores de la deficiencia en la uridina monofosfato sintasa (DUMPs) en terneras de recría de la cuenca lechera en Uruguay. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 23(1), 315.
- Fritz, S., Capitan, A., Djari, A., Rodriguez, S., Barbat, A., Baur A., ... Boichard, D. (2013). Detection of Haplotypes associated with prenatal death in dairy

cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2. *Plos One*, 8(6), e65550.

Fuertes, M.L., Crespo, P.E., Alba, C.G., Dablanca, H.A., Fernández, A.F., y Viana, J.L. (2011). Principales enfermedades genéticas en ganado Holstein. Síndrome Brachyspina. *Revista Frisona*, 186, 96-100.

Gábor, M., Miluchová, M., Trakovická, A., Riecká, Z., Candrák, J., y Vavrišínová, K. (2012). Detection of Complex vertebral malformation carriers in slovak Holstein cattle by high resolution melting analysis. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 62(2-3), 239-248.

Gábor, M., Trakovická, A., Miluchová, M., y Kleknerová. (2012). The use of high resolution melting analysis for detection of the CAPN530 polymorphism in Slovak Simmental bulls. *Animal Science and Biotechnologies*, 45(1), 155-159.

Hung, C.C., Lee, C.N., Chang C.H., Jong, Y. J., Chen, C. P., Hsieh, W. S., ... Lin, W. L. (2008). Genotyping of the G1138A mutation of the FGFR3 gene in patients with *achondroplasia* using high- resolution melting analysis. *Clinical Biochemistry*, 41, 162-166.

Ilie, D. E., Cean, A., Gavriľiuc, O.I., y Păcală, N. (2014). Rapid and sensitive detection of BLAD in cattle population. *Animal Science and Biotechnologies*, 47(1), 109-112.

Ilie D. E., Gavriľiuc O. I., Cean A., Neamț R. I., Neciu F.C., y Păcală, N. (2011). Control strategies for prevention of undesirable traits in cattle – Review. *Animal Science and Biotechnologies*, 44(1), 415-419.

Kamiński, S., Grzybowski, G., Prusak, B., y Ruść, A. (2005). No incidence of DUMPS carriers in Polish dairy cattle. *Journal of Applied Genetics*, 46(4), 395-397.

Kelly, L., Dutra, F., Llambí, S., Rivero, R., Moraes, J., Trenchi, G., ...Dalla Rizza, M. (2012). Diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias bovinas en el Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 48(188), 3-11.

- Khade, A. S., Doiphode, A. Y., Umrikar, U. D., Sawane, M. P., y Pawar, V. D. (2014). Genotyping of the Holstein-Friesian crossbred cattle for gene using PCR-RFLP CD18. *Veterinary World*, 7(5), 360- 362.
- Khan, M.Y.A., Omar, A.I., He, Y., Chen, S., Zhang, S., Xiao, W., y Zhang, Y. (2021). Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle. *Veterinary Medicine and Science*, 7(5), 1728-1735.
- Konersmann, Y., Wemheuer, W., y Brenig, B. (2003). Herkunft, verbreitung und bedeutung des CVM gendefekts in der Holstein Friesian population. *Züchtungskd*, 75, 9-15.
- Kotikalapudi, R., Patel, R.K., Sunkara, P.S.S., y Roy, A. (2013). Detection of silent homozygous polymorphism in exon 4 of SLC35A3 gene in a Holsteincattle carrier for Complex vertebral malformation. *International Journal of Veterinary Science*, 2(2), 61-64.
- Kotzé, A., Van der Walt, S.I., y Vorste, P.W. (1994). Incidence of UMP synthase deficiency in South African Holstein cattle. *South African Journal Animal Science*, 24(1), 37-38.
- Kumar, V. (2015). Diagnosis of genetic disorders in dairy cattle: a review. *Veterinary Practitioner*, 16(1), 170-173.
- Kumar, V., Kumar Singh, R., y Sharma, A. (2010). Deficiency of uridine monophosphate synthase: a recessive disorder in Holstein Friesian cattle. *Veterinary World*, 3(11), 523-525.
- Li, I., Zhai, L., Fang, L., Zhang, S., Liu, L., Zhu, Y., ...Sun, D. (2016). A novel multiplex polymerase chain reaction method for the identification of Brachyspina syndrome carriers in chinese Holstein cattle. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*, 5, 1- 3.
- Liaw, R., Chen, J., Wu, M., y Chang, H. (2017). Development of a new method for rapid genotyping brachyspina syndrome in dairy cattle. *Journal of Taiwan Livestock Research*, 50(3), 213-218.
- Llambí, 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).
Universidad de Zaragoza.

- Llambí, S., Guevara, K., Rincón, G., Zaffaroni, R., De Torres, R., Barrera, J., ...Postiglioni, A. (2003). Freqüência da deficiência na adesão leucocitária em uma população de bovinos da raça Holandesa, no Uruguai. *ARS Veterinaria*, 19(1), 52- 56.
- Meydan, H., Ozdil, F. y Yildiz, M.A. (2006, setiembre 17-20). Identification of BLAD and DUMPS as genetic disorders using PCR-RFLP in Holstein bulls reared in Turkey. En *Proceedings of the 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production* (pp. 91-91), Antalya, Turkey.
- Meydan, H., Yildiz, M. A., y Agerholm, J.S. (2010). Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52, 56.
- Nagahata, H., Miura, T., Tagaki, K., Ohtake, M., Noda, H., Yasuda, T., y Nioka, K. (1997). Prevalence and allele frequency estimation of Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Holstein - Friesian cattle in Japan. *Journal Veterinary Medicine Science*, 59(4), 233-238.
- Nagahata, H., Nishiyama, T., Kanae, Y., Higuchi, H., Kawai, K., Endoh, D. y Kurosawa, T. (2009). A Retrospective Survey of the Prevalence of Complex Vertebral Malformation Carriers in 9 Holstein Dairy Herds in Hokkaido, Japan. *Journal Veterinary Medicine Science*, 71(6), 793-795.
- Nagahata, H., Oota, H., Nitantai, A., Oikawa, S., Higushi, H., Nakade, T., ... Ogawa, H. (2002). Complex vertebral malformation in a stillborn Holstein calf in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64, 1107-1112.
- Natonek, M. (2000). Identification of BLAD mutation in cattle with the PCR-RFLP method. *Biuletyn Informacyjny-Institut Zootechniki*, 38(4), 29-33.
- Nielsen, U.S., Aamand, G.P., Andersen, O., Bendixen, C., Nielsen, V.H., y Agerholm, J.S. (2003). Effects of complex vertebral malformation on fertility traits in Holstein cattle. *Livestock Production Science*, 79, 233-238.

- Nunes, J. S., Lawhon, S. D., Rossetti, C. A., Khare, S., Figueiredo, J. F., Gull, T., ...Adams, L. G. (2010). Morphologic and cytokine profile characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in calves with bovine leukocyte adhesion deficiency. *Veterinary Pathology*, 47(2), 322-333.
- Online Mendelian Inheritance in Animals. (s.f.a). *Bovine leukocyte adhesion deficiency, type I, in Bos Taurus*. Recuperado de <https://www.omia.org/OMIA000595/9913/>
- Online Mendelian Inheritance in Animals. (s.f.b). *Brachyspina in Bos Taurus*. Recuperado de <https://www.omia.org/OMIA000151/9913/>
- Online Mendelian Inheritance in Animals (s.f.c). *Complex vertebral malformation in Bos Taurus*. Recuperado de <https://www.omia.org/OMIA001340/9913/>
- Online Mendelian Inheritance in Animals (s.f.d). *Deficiency of uridine monophosphate synthase in Bos Taurus*. Recuperado de <https://www.omia.org/OMIA000262/9913/>
- Online Mendelian Inheritance in Human. (2019). *Johns Hopkins University*. Recuperado de <http://omim.org/>
- Öner, Y., Keskin, A., y Elmaci, C. (2010). Identification of BLAD, DUMPS, citrullinamia and factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(1), 60-65.
- Patel, R.K., Krishna, M.S., Kalpesh, J.S., Jenabhai, B.C., Krothapalli, R.S., y Sambasiva, R. (2006). Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian Holstein cattle. *Journal of Applied Genetics*, 47,239-242.
- Patel, R.K., y Singh, K.M. (2003). Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency. *Intas Polivet*, 4(1), 11-14.
- Poli, M. A., Dewey, R., Semorile, L., Lozano, M.E., Albarino, C.G., Romanowski, V., y Grau, O. (1996). PCR screening for carriers of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) and uridine monophosphate synthase (DUMPS) in Argentine Holstein cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 43(1-10), 163-168.

- Rahimi, G., Nejati-Javaremi, A., y Olek, K. (2006). Genotyping BLAD, DUMPS and κ -CSN loci in Holstein young bulls of the national animal breeding center of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(7), 1389-1392.
- Rapado, I., Grande, S., y Albizua, E. (2009) High resolution melting analysis for JAK2 Exon14 and Exon 12 mutations: a diagnostic tool for myeloproliferative neoplasms. *Journal of Molecular Diagnostics*, 11, 155-161.
- Rezaee, A.R., Nassiry, M.R., Sadeghi, B., Shafagh Motlagh, A., Tahmoorespour, M., y Valizadeh, R. (2009). Implication of complex vertebral malformation and deficiency of uridine monophosphate synthase on molecular-based testing in the Iranian Holstein bulls population. *African Journal of Biotechnology*, 8(22), 6077-6081.
- Ribeiro, L.A., Baron, E.E., Martinez, M.L., y Coutinho, L.L. (2000). PCR screening and allele frequency estimation of bovine leukocyte adhesion deficiency in Holstein and Gir cattle in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 831-834.
- Romero, A., Artigas, R., y Llambí, S. (2014). Estatus de enfermedades hereditarias en semen importado de raza Holando disponible en Uruguay utilizando bases de datos on line de dominio público. *En V Congreso de la asociación uruguaya de producción animal*, AUPA. Facultad de Veterinaria, UDELAR. Montevideo.
- Ruśc, A, y Kamiński, S. (2007). Prevalence of complex vertebral malformation carriers among Polish Holstein Friesian bulls. *Journal of Applied Genetics*, 48, 247-252.
- Ruśc, A., y Kamiński, S. (2015). Detection of brachyspina carriers within polish Holstein -Friesian bulls. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18(2), 453-454.
- Schütz, E., Scharfenstein, M., y Brenig, B. (2008). Implication of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency DNA-based testing on disease frequency in the Holstein population. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4854-4859.

- Shanks, R.D.; (1990). Reproductive consequences of deficiency of uridine monophosphate synthase in Holstein cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 51, 800-802.
- Shuster, D.E., Bosworth, B.T., y Kehrl, M.E. (1992). Sequence of the Bovine CD18-Encoding cDNA Comparison with the Human and Murine Glycoproteins. *Gene*, 114, 267-271.
- Sun, D. X., Fan, X. H., Xie, Y., Chu, Q., Sun, Y., Zhang, Y., ...Shi, W. H. (2011). Distribution of recessive genetic defect carriers in Chinese Holstein. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5695-5698.
- Thomsen, B., Horn, P., Panitz, F., Bendixen, E., Petersen, A., Holm, L., ...Bendixen, C. (2006). A missense mutation in the bovine *SLC35A3* gene, encoding a UDP-*N*-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome Research*, 16(1), 97-105.
- Tizard, I. (2009). *Introducción a la Inmunología Veterinaria* (8ª ed.). Barcelona: Elsevier.
- Trowald Wigh, G., Håkansson, L., Johannisson, A., Norrgren, L., y Hård af Segerstad, C. (1992). Leucocyte adhesion protein deficiency in Irish setter dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 32(3-4), 261-280.
- Uffo, O., y Acosta, A. (2009). Diagnóstico molecular y estrategias para el control de enfermedades hereditarias importantes en ganadería bovina. *Bioteología Aplicada*, 26, 199-203.
- VanRaden, P.M., Olson, K.M., Null, D.J., y Hutchison, J.L. (2011). Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. *Journal of Dairy Science*, 94, 6153-6161.
- Vătășescu, B.R., Georgescu, S.E., Manea, M. A., Rebedea, M., Dinischiotu, A., y Costache, M. (2006). Incidence of BLAD and DUMPS carriers in Romanian cattle breeds. *Romanian Biotechnological Letters*, 11(5), 2881-2884.

- Vorkas, P.A., Christopoulos, K., Kroupis, C., y Lianidou, E. S. (2010). Mutation scanning of exon 20 of the BRCA1 gene by high resolution melting curve analysis. *Clinical Biochemistry*, 43, 178-185.
- Vossen, R.H., Aten, E., Roos, A., y den Dunenn J.T. (2009). High-resolution melting analysis (HRMA): more than just sequence variant screening. *Human Mutation*, 30, 860-866.
- Wang, S., Hao, H., Zhao, X., Zhu, H., Du, W., Wang, D., ... Wang, Z. (2012). A rapid mismatch polymerase chain reaction assay to detect carriers of complex vertebral malformation in Holstein cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(3), 568-571.
- Windsor, P.A., y Agerholm, J.S. (2009). Inherited diseases of Australian Holstein - Friesian cattle. *Australian Veterinary Journal*, 87(4), 193-199.
- Wittwer, C.T. (2009). High-resolution DNA melting analysis: advancements and limitations. *Human mutation*, 30(6), 857-859.
- Zachary, J.F., y Mc Gavin, M.D. (2012). *Pathologic basis of veterinary disease* (5^a ed.). St. Louis: Elsevier.
- Zhang, Y., Xuehua, F., Dongxiao, S., Yachun, W., Ying, Y., Yan, X., ... Yuan, Z. (2012). A novel method for rapid and reliable detection of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3, 24.

