

RESISTENCIA GENÉTICA A LAS PARASITOSIS GASTROINTESTINALES EN OVINOS: RESULTADOS EN DOS MAJADAS CORRIEDALE.*

Por: Polir, M. A., Cetraz, B. y Medus3, P.D.

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA. CICVyA, Instituto de Genética. Buenos Aires. Argentina. - E-mail contacto: poli.mario@inta.gob.ar

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA. EEA Mercedes. Corrientes. Argentina

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA EEA Concepción del Uruguay, Entre Ríos. Argentina

Los nematodos gastrointestinales (NGI) imponen severas restricciones a la producción de ovejas en todo el mundo y son una de las principales causas de pérdidas económicas.

En la región noreste de Argentina se crían aproximadamente 2,1 millones de ovinos (14,2% del total de ovinos del país) en 37.288 unidades productivas (31,6% del total de unidades) y en la región central se crían 2,7 millones de ovinos (18,3% del total de país) en 45.298 unidades productivas (38,3% del total de unidades). Las unidades productivas, en su mayoría integradas por estructuras familiares, pertenecen a medianos y pequeños productores. La cría se realiza en pastos naturales y / o cultivados [3]. Las condiciones de temperatura y humedad en ambas regiones favorecen el desarrollo de parásitos y la especie más infecciosa y abundante es *Haemonchus contortus*.

Aunque la mortalidad es en general el signo más visible de un parasitismo intenso, la pérdida de peso corporal en los corderos es otra consecuencia, que puede llegar hasta el 10%. Los NGI provocan reducciones de 15-20% en la producción de lana, con pérdidas estimadas en alrededor de 2 US \$ año / animal. La muerte de cada hembra reproductora provocaría pérdidas de alrededor de 70 US \$ y por cada carnero muerto se perderían 400 US (Cetra, B., comunicación personal).

La práctica habitual para el control de la NGI es mediante fármacos antiparasitarios, que se utilizan varias veces al año, basándose general-



mente en algún patrón de infestación [6]. Sin embargo, el uso abusivo e indiscriminado de medicamentos antiparasitarios “para limpiar las majadas” sin una noción real de los conceptos clave sobre epidemiología y otras medidas complementarias de control, ha provocado la aparición de parásitos resistentes a los medicamentos [7]. La evidencia de resistencia de los parásitos a los antiparasitarios se demostró por primera vez en Argentina en la década de los 90 y posteriormente, en un estudio realizado en la provincia de Corrientes por INTA-FAO (2003-2005), se observó que el 80% de las majadas tenían algún grado de resistencia parasitaria a todas las drogas disponibles en el mercado [2].

En la región mesopotámica, se ha informado en numerosas ocasiones de la resistencia de *H. contortus* y otras especies a los benzimidazoles. Particularmente en esta región, el 90% de las majadas muestran algún grado de resistencia a



Rural

Productos genuinos, resistentes y funcionales con una excelente relación costo-beneficio que promueven el desarrollo sustentable.



Río Gallegos: Kirchner 1724- Tel: 02966 42-6299

los benzimidazoles y el 73% de las majadas son multirresistentes, es decir, tienen resistencia al menos a dos fármacos.

Aunque aparecieron nuevas formulaciones en el mercado en los últimos años tales como el monepantel y derquantel, después de cinco años, ya existen informes de resistencia al monepantel en Nueva Zelanda, Australia, Argentina y Uruguay (Goldberg, S. y Romero, J. comunicación personal). Recientemente (septiembre de 2020) el uso del medicamento Naftalofos (Vermkon, König) fue presentado y aprobado en Argentina por SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria - <https://www.argentina.gob.ar/senasa>).

Además de los antiparasitarios existen prácticas complementarias orientadas al control integrado de parásitos, como el uso de taninos condensados, el manejo de los potreros y de las majadas, y una vacuna para *Haemonchus* (desarrollada en Australia - Barvervax). No obstante, estas alternativas se limitan a regiones geográficas y algunas son costosas o no se pueden aplicar debido al tipo de campo donde se crían los animales. En este contexto, es necesario buscar e implementar nuevas opciones para la ganadería ovina en estas regiones que ayuden a reducir las pérdidas, estimular la producción rentable y sostenible en el tiempo y minimizar la contaminación con productos químicos.

Según lo revisado por [4], existe una variación genética considerable entre y dentro de las razas en su capacidad para resistir a los nematodos gastrointestinales. La medida práctica más ampliamente aceptada y utilizada en todo el mundo para medir la resistencia o susceptibilidad a NGI es el recuento de huevos por gramo de heces (HPG).

Entre el año 2010 y 2019 el INTA participó en dos proyectos de Cooperación Internacional de la División de Producción y Salud Animal de la FAO-IAEA para el estudiar las bases genéticas de



la resistencia y resiliencia a la PGI para su uso en programas de mejoramiento. Para lograrlo, se plantearon los siguientes objetivos específicos: **a)** estimar los componentes de la varianza para el peso corporal (Peso), el recuento de huevos en materia fecal (HPG), Hematocrito (Hto) y el índice FAMACHA © (FAM); **b)** estimar las correlaciones fenotípicas y genéticas entre estos rasgos en corderos Corriedale después de un desafío artificial con larvas en estadio 3 de *Haemonchus* sp; **c)** realizar análisis de asociación con un conjunto de marcadores moleculares en genes candidatos para la respuesta inmune.

ANIMALES, FENOTIPOS Y GENOTIPOS

Se utilizaron 1072 corderos Corriedale de ambos sexos, hijos de 35 carneros y con información completa del pedigrí de tres generaciones. Los animales nacieron entre 2010 y 2021. Las majadas estudiadas pertenecían a la EEA Concepción del Uruguay y a la EEA Mercedes del INTA.

De una manera resumida el protocolo de trabajo fue el siguiente:

Los corderos, machos y hembras, fueron identificados y pesados al nacimiento y se registran sus padres. Luego del destete, los corderos fueron mantenidos en el campo hasta el momento de inicio del protocolo de trabajo. El protocolo de

Providean®

CLOSTRIDIAL 10P



Máxima protección contra enfermedades clostridiales y pasteurelosis

Vacuna decavalente para la protección de enfermedades clostridiales, tétanos y neumonías en ovinos y bovinos.



CALIDAD TECNOVAX
PARA EL MUNDO

WWW.TECNOVAX.COM.AR

La línea de biológicos desarrollada por

TECNOVAX
Sanidad Animal

trabajo se inicia con una dosis de antiparasitario a los corderos para llevar a 0 (cero) la carga parasitaria y luego de 7-10 días (dependiendo de la droga utilizada) se inocula via ruminal una dosis de 5000 larvas (L3) de cultivo de *Haemonchus sp.*

El día de la inoculación de las L3 se pesa a los corderos, se determina el índice FAMACHA ©, el hematocrito y se comprueba que la cantidad de huevos por gramos de materia fecal (HPG) sea cero. Estas cuatro mediciones (Peso – FAMACHA © – Hematocrito - HPG), se repiten al día 28, 35 y 42. En el día 42 se desparasitan nuevamente y se da por finalizado el ensayo.

En el periodo comprendido entre la primera dosis de antiparasitario y el día 42, los corderos están en un piquete/potrero donde no puedan ingerir otras larvas de parásitos.

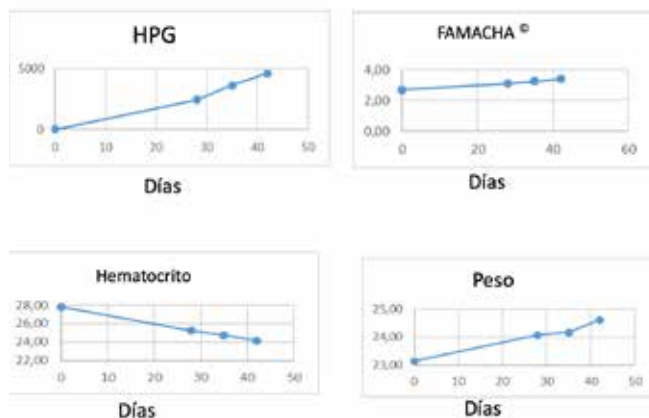
Además de las mediciones tomadas durante el ensayo, el peso corporal fue registrado cada 45 días durante un año, una muestra de lana a la primera esquila fue analizada y una muestra de sangre fue congelada.

El ADN genómico fue obtenido de las muestras de sangre por medio de kits comerciales. Un total de 173 marcadores moleculares del tipo de variaciones de nucleótido único (SNPs – *single nucleotide polymorphisms*) de 77 genes candidatos para la respuesta inmune se genotiparon en 624 animales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la evolución y tendencia de los diferentes rasgos medidos luego de la infestación con L3 de *Haemonchus sp.* Los HPG aumentaron con el tiempo mostrando diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el día 0 y el resto de los días como también el índice FAMACHA ©. Por el contrario, la media de Hematocrito disminuyó. El peso medio durante los 42 días de exposición aumentó 1,5 kg. Hubo diferencias significativas ($p < 0,001$) entre todos los contrastes excepto entre el día 28 y el día 35 ($p > 0,05$).

Figura 1. Evolución del HPG, FAMACHA ©, Hematocrito y el peso



En la Tabla 1 se muestran las heredabilidades estimadas y las correlaciones fenotípicas y genéticas para Peso, FAMACHA ©, Hematocrito y HPG.



RASGO	Peso	FAMACHA ©	Hto	HPG
Peso	0.44 (0.05)	-0.29 (0.13)	0.07 (0.15)	-0.42 (0.12)
FAMACHA ©	-0.36 (0.03)	0.29 (0.06)	-0.46 (0.12)	0.76 (0.10)
Hto	0.20 (0.04)	-0.50 (0.03)	0.31 (0.07)	-0.65 (0.12)
HPG	-0.29 (0.05)	0.42 (0.03)	-0.50 (0.03)	0.32 (0.06)

a_{h2} : Heredabilidades en la diagonal (negrita), correlaciones genéticas por encima de la diagonal y correlaciones fenotípicas por debajo de la diagonal. Desviaciones estándar entre paréntesis. Las $h2$ estimadas fueron similares para FAMACHA © (0.29), Hto (0.31) y HPG (0.32) y superiores a las reportados por (1) Balconi Marques et al (2020) para la misma raza en Uruguay (0.10, 0.25 y 0.19, respectivamente).

El Peso se correlacionó de manera favorable con HPG (-0,42) y con FAMACHA © (-0,29), esto es, los corderos con menor carga parasitaria y un índice de anemia menor tuvieron mayor peso. Sin embargo, la correlación genética con Hto

fue prácticamente nula (0,07). Las correlaciones genéticas negativas entre Hto y FAMACHA © (-0,46) y entre Hto y HPG (-0,65) y la correlación genética positiva encontrada entre HPG y FAMACHA © (0,76) son indicativas de una respuesta típica al parásito hematófago *Haemonchus* sp. El índice FAMACHA © ($h2 = 0.29$) y su correlación genética positiva con HPG (0.76) sugieren que puede usarse como un buen indicador de parasitismo con *Haemonchus* sp.

Las correlaciones fenotípicas y genéticas negativas entre Peso y HPG (corderos con valores bajos de HPG y altos en Peso) y la correlación positiva con Hto indican que es posible seleccionar

Estancia "Laguna Colorada"

PRODUCIENDO EL CORRIEDALE DEL FUTURO..., HOY.

Venta permanente de borregos y carneros AC con evaluación genética PROVINO avanzado

Estancia "Laguna Colorada"
 Ruta Pcial N° 5 km 40
 Santa Cruz | Patagonia Argentina

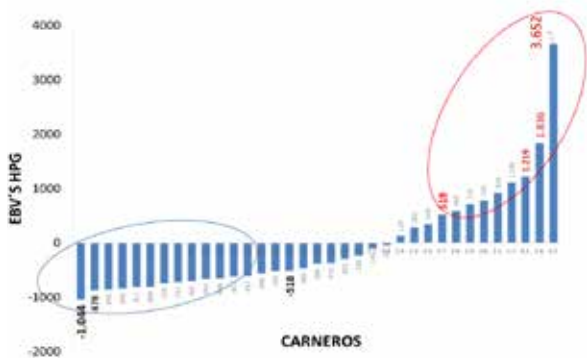
CUIT Laguna Colorada 30529452965

Contacto: GREGORY PAUL ALDRIDGE
 +54 9 2966 62-0582
 Gregory Paul Aldridge
 @gregorypaulaldridge
 lagunacolorada@outlook.com

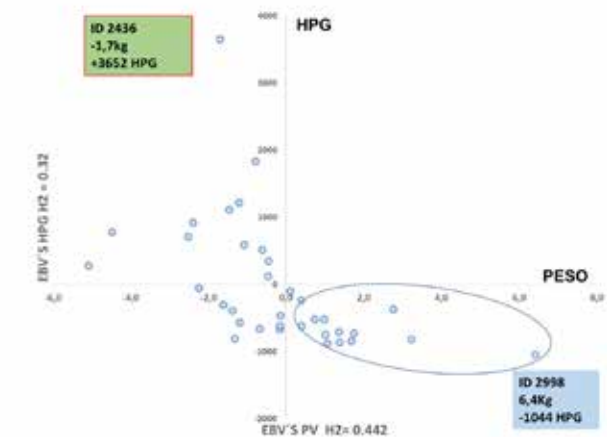
animales para ambos caracteres simultáneamente con una respuesta positiva y también con mejores valores hematológicos.

La Figura 2 muestra la distribución de los valores de cría (EBV-estimated breeding value) de HPG en 35 carneros Corriedale. Los valores máximos y mínimos de EBV para HPG observados en carneros fueron 3652 (más susceptibles) y -1044 (más resistentes) respectivamente. Los EBV son indicadores del mérito genético de cada carnero y se pueden usar para predecir cambios futuros para HPG de sus progenies (DEP-diferencia esperada en la progenie)

Figura 2. Distribución de EBV de HPG para 35 carneros Corriedale



La Figura 3 muestra la distribución de los valores de cría para HPG y Peso en los 35 carneros. En el trabajo se encontró que el 37% (13/35) de los carneros eran más resistentes (tenían valores negativos para HPG) y valores positivos para Peso (cuadrante derecho e inferior).



GENÓMICA

Hasta el momento hemos encontrado siete SNP en regiones del genoma que se encuentran asociados con valores reducidos de HPG (más resistentes). Entre esos marcadores asociados el más significativo es el OLADRA1_479, un SNP que se encuentra en la región del gen DRA dentro del Sistema Mayor de Histocompatibilidad del ovino en el cromosoma 20. Luego, encontramos cuatro SNP en el cromosoma 3 (en orden decreciente de importancia: CLEC12A_567, CLEC8A_532, CLEC12A_440 e IL2RB_180). Esos SNP se ubicaron en dos genes de dos familias de dominios de lectina de tipo C y en el gen β del receptor de interleucina 2. Los SNP significativos que se encuentran asociados con HPG se encuentran en genes involucrados en diferentes etapas de la interacción patógeno-huésped, como el reconocimiento de patógenos (TLR y familias de genes del dominio de lectina de tipo C), la respuesta inmune innata (MASP y TLR), y respuesta adaptativa a la infección (familias de genes del dominio de lectina de tipo C, IL2R y OLADRA) (5) (Raschia et al 2021).

OBSERVACIONES FINALES

Los nematodos gastrointestinales en las ovejas se han vuelto rápidamente resistentes a todos los fármacos desarrollados en los últimos años y no hay duda de la necesidad de un control de manejo integrado de los parásitos. Además de la rotación de potreros, estrategias de desparasitación que involucran puntaje de FAMACHA ©, antiparasitarios alternativos (ej. taninos), entre otras prácticas, el uso de carneros y ovejas genéticamente más resistentes y resilientes se visualiza como la estrategia más sostenible y "limpia" en el tiempo.

El protocolo CRPD3.10.26 FAO-IAEA utilizado durante más de 10 años nos permitió no solo obtener información fenotípica y genotípica para sustentar un programa de mejoramiento en la raza Corriedale al tener los componentes de varianza, correlaciones y heredabilidades, sino también encontrar la variabilidad genética de rasgos subyacentes de resistencia y resiliencia a la NGL en ovejas. Además, ninguno de los animales desafiados se vio afectado negativamente ni para el crecimiento ni para la salud y el desafío artificial con L3 nos

permitió en corto tiempo obtener datos propios sobre resistencia y resiliencia a GIN.

Los resultados indican que en la raza Corriedale existe suficiente variabilidad genética para los cuatro rasgos estudiados y los valores de heredabilidades y correlaciones genéticas y fenotípicas obtenidos apoyan un uso potencial para el progreso genético en todos los rasgos.

La alta correlación genética entre HPG y FAMACHA © estimada en este trabajo (0,76) y la correlación genética negativa entre HPG y Hto (-0,46) sugieren la posibilidad de utilizar ambos rasgos para seleccionar animales por resistencia y resiliencia a los NGL.

Actualmente, el protocolo se está utilizando en cuatro unidades experimentales del INTA y en dos cabañas privadas en las razas Corriedale, Texel e Ideal.

Por medio de los análisis de asociación utilizando los SNPs de genes candidatos, identificamos variaciones que tienen significancia para la resistencia a nematodos en ovejas Corriedale. Esta información junto con la proveniente del barrido del genoma (actualmente en análisis 54000 SNPs en al menos 800 corderos) permitirá obtener evaluaciones genómicas más precisas y constituirá una herramienta para la selección genómica prometedora a mediano plazo para reducir eficazmente las infecciones parasitarias y permitir una producción ovina rentable y sostenible.

* Los resultados y parte del manuscrito fueron adaptados del trabajo "Integrating technologies for the sustainable control of gastrointestinal parasites in sheep. The Argentinian case. Poli, M.A. et al, (2021) presentado en: "FAO/IAEA International Symposium on Sustainable Animal Production and Health – Current Status and Way Forward. 28 June – 2 July 2021.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Balconi Marques, C., Goldberg, V & Ciappesoni, G. 2020. Genetic parameters for production traits, resistance and resilience to Nematode parasites under different worm burden challenges in Corriedale sheep. *Veterinary Parasitology* 287 (2020) 109272. doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109272.
- [2] Caracostantogolo, J., Castaño, R., Cutullé, C., Cetrá, B.M., Lamberti, R., Olaechea, F., Ruiz, M., Schapiro, J., Martínez Balbiani, G. & Castro, M. 2005. Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. *FAO. Serie Producción y Sanidad Animal* Pág. 7-14.
- [3] Faverio, I., Lamboglia, M., Galán, N., Correa, S. & Brandi, L. 2016. PLAN GANADERO OVINO PROVINCIA DE BUENOS AIRES 2016 – 2023 - UEP Bs As, https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/d_ovinos/informes/_nacionales/_archivos/000001_Buenos%20Aires/000000_Plan%20Ganadero/000000_Plan%20Ganadero%20Ovino%20de%20Bs%20As%202016-2023.pdf
- [4] Periasamy, K., Pichler, R., Poli, M.A., Cristel, S., Cetrá, B., Medus, P.D., Basar, M., Ramasamy, T.A.K., Babbar Ellahi, M., Mohammed, F., Teneva, A., Shamsuddin, M., Garcia Podesta, M. & Diallo, A. 2014. Candidate Gene Approach for Parasite Resistance in Sheep – Variation in Immune Pathway Genes and Association with Fecal Egg Count. *PLOS ONE*. Volume 9. Issue 2. e88337.
- [5] Raschia MA, Donzelli MV, Medus PD, Cetrá BM, Maizon DO, Suarez DH, Pichler R, Periasamy K, Poli MA. 2021. Single nucleotide polymorphisms from candidate genes associated with nematode resistance and resilience in Corriedale and Pampinta sheep in Argentina. *Gene* 770 (2021) 145345; doi.org/10.1016/j.gene.2020.145345
- [6] Suarez, V.H. & Busetti, M. 1995. Epidemiology of helminth infections of growing sheep in Argentina's western pampas. *International Journal for Parasitology*, 25, 4: 489-494.
- [7] Suarez, V.H. 2007. Resistencia antihelmíntica en nematodos ovinos. In Suárez, V.H., Olaechea, F.V., Rossanigo, C.E., Romero J.R. (Eds.), *Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América*. PT N° 70, INTA, Argentina, Cap. I.1.4. pp. 85-106.



Marca: Draminski
Origen: Polonia

Detector gestación OVINOS

El Zonda Tecnología Agropecuaria

www.elzondatec.com / ventas@elzondatec.com