

Informe final publicable de proyecto Genotipado de alta densidad en bovinos Criollo Uruguayo como herramienta para el manejo genético de los rodeos.

Código de proyecto ANII: FMV_1_2019_1_156176

02/03/2022

ARMSTRONG REBORATI, Eileen Marfa (Responsable Técnico - Científico)

ABAD NJERS, Germán (Investigador)

NAYA MONTEVERDE, Hugo Mario (Investigador)

JARA TELLECHEA, Eugenio (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE VETERINARIA (Institución Proponente) \\
INSTITUTO PASTEUR DE MONTEVIDEO

Resumen del proyecto

El bovino Criollo Uruguayo (BCU), descendiente directo del ganado introducido por los conquistadores europeos, constituye un recurso ganadero de altísimo valor. Existen amplias evidencias de las excelentes aptitudes productivas de los bovinos Criollos americanos, destacándose su rusticidad, adaptabilidad a ambientes restrictivos, fertilidad y calidad de carne. Con este proyecto se incorporó el genotipado masivo de marcadores polimórficos de nucleótido simple (SNP) a la gestión de los dos rodeos conocidos (en Rocha y Cerro Largo), con el objetivo de seleccionar los animales de mayor pureza, gestionar los apareamientos, seleccionar los toros para el banco de semen, determinar paternidades dudosas y evaluar los animales a incorporar a los registros genealógicos de la Asociación Rural del Uruguay. Se generó una base de datos de 64.000 marcadores para 289 animales (18 millones y medio de genotipos). Se integró la información proveniente de ambos rodeos para el manejo de la raza como una sola entidad. Se generaron datos de endogamia individual y por rodeo, así como estimaciones de parentesco entre los individuos que permitirán gestionar los apareamientos para disminuir la consanguinidad. Se constató que todos los animales de la reserva de Rocha (principal reservorio de la raza) son BCU puros, incluso un ternero mocho (sin cuernos), que servirá para la generación de una línea de bovino Criollo Uruguayo Mocho, por fuera de la reserva y con fines comerciales. Se detectaron animales cruza en el rodeo de Cerro Largo, que serán apartados del plantel de reproductores, así como otros más cercanos genéticamente al rodeo de Rocha. Gracias al proyecto es posible seleccionar animales para generar otros rodeos de BCU genéticamente viables, y analizar objetivamente nuevos animales que eventualmente se detecten en nuestro territorio. El objetivo final de nuestra línea de investigación es incorporar al BCU en el sistema productivo de nuestro país.

Ciencias Agrícolas / Biotecnología Agropecuaria / Tecnología GM, clonación de ganado, selección asistida, diagnósticos, etc. / Genómica poblacional

Palabras clave: genotipado alta densidad / bovino Criollo Uruguayo / manejo poblacional /

Introducción

Los bovinos Criollos se encuentran distribuidos por todo el continente americano, desde el sur de Estados Unidos hasta la Patagonia, estando adaptados a una gran variedad de ecosistemas. Descienden del ganado traído por los conquistadores españoles y portugueses desde el descubrimiento de América. Las buenas condiciones ambientales de la región del Río de la Plata fomentaron la rápida multiplicación y dispersión del ganado, base de la ganadería colonial antes de disminuir por la introducción de razas británicas a fines del siglo XIX. El bovino Criollo Uruguayo (BCU) es la única raza bovina desarrollada íntegramente en nuestro país, descendiente directo de los animales introducidos al país por Hernandarias en 1611, por lo que ya llevan cuatro siglos de adaptación a nuestro medio. Se adaptan muy bien a medios agrestes como son los ambientes serranos y a condiciones muy variables de disponibilidad de alimento (Postiglioni y Armstrong, 2005). Estas razas locales "autóctonas" han demostrado ser muy valiosas por el proceso de adaptación que han experimentado. A diferencia de razas comerciales fuertemente seleccionadas, las razas locales han permanecido ligadas por siglos a un ambiente determinado que ha favorecido la eficiencia, la productividad y la sobrevivencia en ese medio concreto. La FAO promueve la caracterización y utilización de estas razas por considerarlas imprescindibles para lograr un desarrollo económico sustentable, dado que están directamente ligadas a la conservación de los ambientes naturales y al arraigo de las comunidades al medio rural (<http://www.fao.org/dad-is/en/>).

En el Departamento de Genética y Mejora Animal de Facultad de Veterinaria (FVET) estudiamos la reserva de BCU existente en el Parque San Miguel (Rocha, 500 animales aprox.) desde 1996, desde el punto de vista genético molecular, citogenético, productivo y reproductivo, en colaboración con investigadores nacionales y extranjeros. Los estudios revelan que presenta características genéticas y fenotípicas propias que lo diferencian de las razas bovinas introducidas más tardíamente, y lo asemejan, sin perder identidad, a otros Criollos americanos (Postiglioni y Armstrong, 2005; Delgado et al., 2011; Ginja et al., 2019). Estudios con marcadores moleculares altamente polimórficos revelan una alta diversidad genética y bajos índices de endogamia (Armstrong et al., 2006; Armstrong et al., 2013), así como una gran diversidad alélica en genes relacionados a producción de leche y derivados (Rincón et al., 2006) y predominancia de alelos y genotipos asociados a carne de bajo tenor graso y de mayor ternura (Armstrong et al., 2011).

Se evaluó el crecimiento, calidad de la canal y calidad de la carne de novillos Criollos en comparación con una raza altamente seleccionada para carne (Hereford). Ambas razas presentaron valores similares en cuanto a curvas de crecimiento, rendimiento de la canal y calidad de la carne, presentando

el Criollo valores significativamente mayores para área del ojo de bife, porcentaje de músculo y nivel de engrasamiento, y significativamente

menores para porcentaje de hueso (Armstrong et al., 2021).

Existen experiencias que dan cuenta del potencial productivo de otros Criollos americanos, subrayando su rusticidad, su capacidad de adaptación a medios poco favorables, su elevada fertilidad y su capacidad de producción de carne de elevada calidad (Rabasa et al., 2005; Spiegel et al., 2017, Holgado 2019. Sus bajos requerimientos los hacen mucho menos costosos de mantener, con tasas de retorno económico superiores a las de razas comerciales (Anderson et al., 2015).

Hasta el año pasado el rodeo de Rocha era el único conocido, lo que suponía una amenaza para su conservación. A raíz de las 1as Jornadas del Bovino Criollo Uruguayo (mayo 2018, FVET), se detectó otro rodeo en Aceguá (Cerro Largo, de unos 60 animales puros además de muchos mestizos) en un establecimiento agropecuario familiar. Con este hecho se abrieron nuevas perspectivas para la conservación de la raza como recurso genético ganadero y a su potencial desarrollo comercial en nuestro país.

El presente proyecto ha contribuido a organizar el manejo de la raza como una sola entidad. Se podrán lograr varias cosas que hasta ahora no han sido posibles o se han hecho en forma parcial y poco objetiva: evaluación genética de los rodeos, selección objetiva de los animales más interesantes desde el punto de vista genético, detección de los animales con introgresión de otras razas, planificación racional de los grupos de entore, selección de los animales base para los registros genealógicos, selección de toros para el banco de semen, control de los apareamientos consanguíneos y diagnóstico de paternidad. El propósito del proyecto fue generar datos objetivos (genotipos) y una herramienta molecular (perfil genómico) que permitan gestionar la raza y los rodeos que la componen de manera racional y sostenida en el tiempo. La evaluación fenotípica (conformación corporal, pelaje, morfología de los cuernos, desempeño reproductivo) no será dejada de lado, sino que se complementarán.

Con estas nuevas herramientas moleculares y reproductivas se efectuará un manejo más racional de este recurso genético alternativo de nuestra ganadería, con vistas a su conservación, desarrollo y explotación comercial.

Metodología/diseño del estudio

Basándonos en estudios anteriores (Delgado et al., 2011; Armstrong et al., 2013; Ginja et al., 2019), nuestra hipótesis es que el BCU presenta un perfil genómico propio, distinguible de otros bovinos Criollos americanos y de otras razas bovinas presentes en nuestro país. Dicho perfil servirá como insumo para la selección de reproductores y de los animales a inscribir en los registros de la ARU. Por perfil genómico se entiende un subconjunto de genotipos de SNP comunes a los animales que presentan mayor tipicidad fenotípica (evaluada a través de la conformación corporal, la coloración del pelaje, la morfología de los cuernos, etc.), sin presentar genotipos propios de otras razas que evidencien mestizaje, y que en estudios comparativos con otras razas (Criollas, británicas y lecheras, para las cuales existen datos similares) indiquen una combinación de genotipos singular y propia del bovino Criollo Uruguayo. Con este subconjunto de SNP se podrá diseñar un panel de baja densidad para evaluar otros animales (actuales y futuros) a un menor costo.

En octubre 2018 realizamos un relevamiento de los rodeos de Rocha y Cerro Largo con la asesoría de un inspector de la raza Bovino Criollo Argentino, detectando (mediante evaluación morfológica y visual) los animales con mayor tipicidad y que se presumen más puros. En esta selección preliminar los animales se dividieron en tres grupos: los de mayor tipicidad (elite), los intermedios y los de menor tipicidad. Se trató de una evaluación visual, fenotípica, que claramente no es suficiente para garantizar un manejo racional del recurso, pero que sirvió de punto de partida para el presente muestreo.

En este momento necesitamos una herramienta más poderosa para determinar los animales más valiosos para su inclusión como reproductores, así como para descartar posibles animales cruza, y definir los apareamientos según nivel de endogamia para garantizar el futuro de la raza. Para ello se realizó el genotipado con el microarray de 64.000 SNP (Axiom Bovine Genotyping v3 Array, de Affymetrix) de una muestra de animales del rodeo de Rocha y la totalidad de los animales clasificados como Criollos en el rodeo de Cerro Largo. Este chip incluye SNP detectados por el Bovine HapMap Consortium, SNP para la determinación de paternidad y SNP presentes en genes de interés productivo, validados en 19 razas diferentes de carne y leche (<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/551089>).

Del rodeo de Rocha se analizó la siguiente muestra:

- todas las vacas de cría del grupo elite
- terneros nacidos en 2019 y en 2020 (dos generaciones), de donde surgirán madres y toros de reposición
- todos los toros (incluyendo los del banco de semen congelado de la raza)
- vacas de cría al azar del grupo intermedio.
- vacas de cría al azar del grupo general (menos típicas).

NOTA: gracias a un traspaso de fondos entre rubros del proyecto será posible analizar también a la generación 2021 de

terneros, que están naciendo en estos momentos.

Se genotipó todo el rodeo de Cerro Largo preseleccionado como Criollo:

- toros (4)
- vacas y vaquillonas (26)
- terneros nacidos en 2019 y 2020 (34)

En total se analizaron 219 animales de Rocha (más 6 novillos Hereford para detectar mestizaje) y 64 de Cerro Largo (289 animales). Es de destacar que se analizaron más animales que los originalmente propuestos (170 animales). Próximamente se conseguirán genotipos comparables de animales Holstein Friesian y Aberdeen Angus para detectar otros posibles mestizajes.

El ADN se extrajo y se procesó en la empresa Genexa (ex Genia, Uruguay). Los análisis de los datos se realizaron mayormente con software libre, utilizando el servidor de la Unidad de Bioinformática del Institut Pasteur de Montevideo y computadoras de la Unidad de Genética y Mejora Animal de FVET. El análisis de calidad de los genotipos se realizó a través de paquetes de la suite estadística R, específicos para el análisis de chips de SNPs (argyle), así como usando plink. Los análisis poblacionales para determinar el perfil genómico de la raza (conjunto de genotipos más comunes entre los animales de mayor tipicidad), el parentesco entre los individuos y el posible nivel de introgresión de otras razas se realizaron con plink, Admixture, así como con paquetes de R (LEA, poppr, GenABEL, etc.).

Resultados, análisis y discusión

En total se analizaron 219 animales de San Miguel, en Rocha (más 6 novillos Hereford para detectar mestizaje) y 64 de San Joaquín, en Cerro Largo (289 animales en total). Es de destacar que se analizaron más de cien animales más que los originalmente propuestos (170 animales), debido a la reasignación interna de fondos entre diferentes rubros y a la colaboración con investigadores del exterior. De hecho, aún sobra presupuesto para un tercer genotipado de 90 animales más, que se va a cubrir con los terneros que están naciendo en este momento en los rodeos, de forma de tener al menos tres generaciones representadas en el análisis. Todos los genotipos se obtuvieron con el chip Axiom_BovMD v3 de Affymetrix, generándose un banco de datos de aproximadamente 64.000 genotipos de SNP por animal (más de 18 millones de genotipos en total). La mayoría de los genotipados se realizaron en la empresa Genexa de nuestro país, lo que contribuyó también al fortalecimiento de las capacidades técnicas de una empresa local. Parte de los genotipos (90) se obtuvieron gracias a la colaboración con el Dr. Mario Poli (INTA Argentina), los Dres. Paolo Ajmone y Johanna Ramírez de la Università Cattolica del Sacro Cuore (Italia) y el Dr. Kathiravan Periasamy (FAO/IAEA, Austria).

Los datos fueron analizados con el programa PLINK v1.07, el paquete estadístico R y el paquete Axiom Analysis Suite 5.1.1., de Thermo Fisher.

Ambas poblaciones muestran heterocigosidad similar y moderada ($H_o = 0,24$ en San Miguel, SM y $0,27$ en San Joaquín, SJ), bajos niveles de endogamia globales ($FIS = -0,013$ SM y $0,011$ SJ) y baja distancia genética entre ambos rodeos ($FST = 0,07$). La distancia entre los animales Criollo y los Hereford es mayor en el rodeo de San Miguel ($FST = 0,135$) que en el de San Joaquín ($FST = 0,085$). Los árboles de distancia genética muestran tres clústers: dos para SJ (explicable por la introgresión de otras razas, incluyendo Hereford) y uno para SM (población homogénea, en aislamiento reproductivo).

Se calculó la consanguinidad de cada individuo, la cual varía en SM entre $-0,19$ y $0,26$, y en SJ entre $-0,17$ y $0,30$. Se detectaron algunos animales con una consanguinidad individual elevada, lo cual será tomado en cuenta para futuros apareamientos.

Se detectaron tramos de homocigosidad (ROHs) en varios cromosomas, de entre 1,39 Mb (BTA 19) a 12,60 Mb (BTA 16).

Se incluyó en el muestreo un animal mocho (sin cuernos), que gracias a nuestros análisis pudimos determinar que es de raza pura Criollo Uruguayo, lo que permitirá generar a futuro una línea comercial de Criollo mocho, de más fácil manejo, por fuera del rodeo de la Reserva de San Miguel. Existen antecedentes de animales Criollos mochos en Uruguay y en el bovino Criollo Argentino.

En resumen, se confirmó la pureza racial y la homogeneidad del rodeo de SM, cobrando aún más importancia como reserva genética a conservar, y se detectaron animales muy valiosos en SJ, los cuales servirán para acrecentar el acervo genético de la raza. En este momento nos encontramos realizando análisis más profundos, que brindarán insumos para una mejor gestión de los rodeos y para el manejo de la raza como una sola entidad.

Se presentó el siguiente resumen en formato póster en el XVIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Genética realizado en octubre de este año en Chile en formato virtual: "Caracterización de dos rodeos de Bovino Criollo Uruguayo mediante un panel de SNP de mediana densidad – resultados preliminares. Armstrong, Eileen; Abad, Germán; Jara,

Eugenio; Caffaro, Eugenia; Poli, Mario; Periasamy, Kathiravan; Naya, Hugo” (<https://alagenet.org/alag2021/wp-content/uploads/2021/07/Gene%CC%81tica-y-mejoramiento-animal.pdf>).

Se presentaron más resultados del presente proyecto en las 2das Jornadas del Bovino Criollo Uruguayo, del 4 al 6 de noviembre de este año, organizadas por el grupo de investigación en Bovinos Criollos de Facultad de Veterinaria de UdelaR. La presentación fue oral a cargo del Lic. Germán Abad y se tituló “Análisis genómicos en el bovino Criollo Uruguayo como estrategia para su conservación y manejo”.

Conclusiones y recomendaciones

Se confirmó la pureza racial y la homogeneidad del rodeo de San Miguel (Rocha) y se detectaron animales muy valiosos en San Joaquín (Cerro Largo), los cuales servirán para acrecentar el acervo genético de la raza.

Se recomienda conservar el rodeo de San Miguel como reserva genética de la raza bovino Criollo Uruguayo. Para ello se recomienda preservar la identidad genética del mismo, no introduciendo animales o material genético (ej. semen) de otras razas Criollas americanas. La introducción de animales o material genético de otras poblaciones de Criollo Uruguayo de nuestro país deberá hacerse con la certeza de que se trata de animales Criollo Uruguayo puros, mediante análisis similares a los llevados a cabo en el presente proyecto. En esta población no se recomienda llevar adelante ningún tipo de selección artificial, para preservar las características originales de la raza.

Los dos rodeos se observan como poblaciones distintas (dos clústers o grupos separados en los dendrogramas). Dentro de San Joaquín se observan dos grupos: uno con animales más parecidos genéticamente con los de San Miguel (más puros, los cuales podrían utilizarse como reproductores en San Miguel en condiciones controladas) y otros más alejados (menos puros); dentro de este último grupo se detectaron animales con elevado nivel de mestizaje. Estos animales, en especial las hembras, no deberían ser descartados, sino apareados con animales de San Miguel hasta lograr una pureza racial elevada por absorción.

En sucesivos eventos de entore o de inseminación artificial se priorizará aparear a los animales menos emparentados entre sí, como forma de minimizar la endogamia.

Se detectó un animal macho Criollo Uruguayo puro en el rodeo de San Miguel que no presenta cuernos (mocho). Dado que esta característica se había detectado con anterioridad en bovinos Criollos Uruguayos, a que existe bibliografía histórica que da cuenta de ello, y a que la variedad mocha existe en otros Criollos americanos, se recomienda su utilización para la generación de una variedad de bovino Criollo Uruguayo Mocho, fuera de la reserva de San Miguel.

Los análisis genéticos deberían seguir haciéndose en las sucesivas generaciones, como forma de controlar la diversidad genética, los niveles de endogamia y detectar eventos no deseados de mestizajes con otras razas.

Se recomienda la expansión de la raza bovino Criollo Uruguayo más allá de los rodeos actualmente conocidos, para que sea utilizada por productores particulares de Uruguay o de cualquier país que deseen aprovechar sus cualidades como raza de ganado para producción. En dichos rodeos comerciales se podrá llevar adelante selección para las características que se deseen, introgresión de otras razas Criollas, cruzamiento con otras razas, etc.

Referencias bibliográficas

- Anderson DM et al. 2015. *Rangelands* 37(2):62—67.
- Armstrong E 2004. Análisis de la diversidad genética del bovino Criollo Uruguayo mediante microsatélites. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, PEDECIBA.
- Armstrong E et al. 2006. *Genetics and Molecular Biology* 29 (2): 267 – 272.
- Armstrong E et al. 2011. *Archivos de Zootecnia* 60 (231): 707 – 716.
- Armstrong E et al. 2013. *Gen. Mol. Res.* (12): 1119 - 1131.
- Armstrong E et al. 2017. Evaluación de novillos Criollo Uruguayo para producción de carne. X Jornadas Técnicas Veterinarias, Montevideo.
- Decker JE et al., 2014. *PLoS Genet* 10(3): e1004254.
- Delgado JV et al. 2011. *Anim. Gen.* (10): 1365 – 2052.
- Ferrando C et al. 2006. Ganado bovino Criollo Argentino y Aberdeen Angus en los llanos de La Rioja. Resultados de 11 años de evaluación en sistemas de cría. Ficha técnica INTA EEA La Rioja, ISSN 1669-323X.
- Garriz CA. 1986. Ganado Bovino Criollo, Tomo 1. Orientación Gráfica Editora. Pp. 25-44.
- Ginja C et al., 2019. *Scientific Reports*. 9(1):11486.
- Holgado FD y Ortega MF. 2019. Caracterización productiva del bovino Criollo Argentino: período 2006-2016. Ediciones INTA.
- Isaurralde A et al., 2019. Comparación de la conformación y rendimiento a la faena entre novillos Criollo Uruguayo y Hereford. XI Jornadas Técnicas Veterinarias, Montevideo.
- Martinez RD et al. 2000. *Arch. Zootec.* 49:353-361.
- Martinez RD et al. 2007. *Veterinaria (Montevideo)* 42 (165-166) 29 - 33.
- Namur P y Ferrando C. 2007. Rendimiento carnicero y su relación con las formas externas en bovinos criollos, británicos y sus cruza. INTA EEA La Rioja. Sitio Argentino de Producción Animal.
- Postiglioni A y Armstrong E. 2005. *Agrociencia* IX: 465-471.
- Rabasa A et al. 2005. *Agrociencia* Vol. IX N° 2 y N° 3 pág. 473 – 477.
- Rincón G et al. 2006. *Genetics and Molecular Biology* 29 (3): 491 – 495.
- Spiegel S et al. 2017. *Rangeland Ecology & Management* 72, 590–601.

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional. (CC BY-NC-SA)