ITEA (2004), Vol. **100A N.° 3,** 197-201

BÚSQUEDA DE REGIONES GENÓMICAS CON INFLUENCIA SOBRE LA RESISTENCIA A LAS TRICOSTRONGILIDOSIS EN EL GANADO OVINO DE RAZA CHURRA

J.J. Arranz*, J. Pérez, M.F. El Zarei*, B. Gutiérrez-Gil*, L.F. de la Fuente*, L. Álvarez*, Y. Bayón*, F. San Primitivo*, F.A. Rojo-Vázquez****

* Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. 24071 León

** Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. 24071 León

Introducción

Las parasitosis gastrointestinales son una de las enfermedades más importantes en los rumiantes domésticos afectando, fundamentalmente, a los animales cuyo sistema de explotación está basado en el pastoreo (PERRY *et al.*, 2002). El impacto de estas infecciones en el ganado ovino es muy elevado, tanto desde el punto de vista económico como del sanitario. Económicamente, la incidencia de la parasitosis es doble. Por una parte los animales parasitados presentan un menor nivel productivo, ya que los nematodos gastrointestinales reducen la eficiencia de los nutrientes, causando un menor potencial tanto en crecimiento como en producción de leche. Por otra parte, es necesario contemplar el impacto económico que supone el tratamiento con antihelmínticos. En general, en España se ha estimado que las infecciones por tricostrongílidos ovinos afectan alrededor del 90 % de los rebaños y estas infecciones son responsables del 30% de las pérdidas económicas en el ganado ovino (PÉREZ, 2003). Desde el punto de vista sanitario, los animales parasitados presentan una mayor susceptibilidad ante infecciones concomitantes y, al ser tratados con fármacos, estos productos pueden dejar residuos en la leche y/o en la carne, que afecten a su calidad.

El control de las parasitosis se ha realizado de forma tradicional utilizando antihelmínticos. Estos tratamientos se han mostrado eficaces, aunque en los últimos años hay numerosos estudios que han demostrado la existencia de fenómenos de resistencia por parte de los nematodos frente a los vermífugos (ÁLVAREZ SÁNCHEZ, 2003; JACKSON and Coop, 2000; WALLER, 1997). Existen otras estrategias complementarias de control, entre las que se han señalado la vacunación, diferentes tácticas de pastoreo rotacional para minimizar el contacto de los animales con el parásito, la existencia de hongos con actividad nematofágica y, principalmente, la utilización de animales genéticamente resistentes a las infecciones por nematodos (WOOLANSTON and PIPER, 1996; WOOLANSTON and WINDON, 2001). El fenómeno de resistencia genética a las parasitosis gastrointestinales ha sido ampliamente estudiado en el ganado ovino y en otras especies de animales domésticos, desde las primeras décadas del siglo XX

(BISHOP *et al.*, 2002). En general, se estima la resistencia de los animales a las nematodosis gastrointestinales como una medida de la capacidad del hospedador para limitar el establecimiento, el crecimiento, la fecundidad y la persistencia de la población parasitaria. Los componentes de la resistencia son complejos y entre ellos se han citados mecanismos relativos a la inmunidad humoral y la celular, aspectos nutricionales, momento fisiológico y productivo etc. (GASBARRE and MILLAR, 2000). Por lo que respecta al componente genético, se ha estimado en diversas situaciones con valores de heredabilidad variables y que oscilan entre 0,2 y 0,6 (STEAR *et al.*, 2001). Por lo que se refiere a los parámetros utilizados para medir la resistencia, en el ganado ovino uno de los mejores indicadores es el recuento de huevos en heces (FEC). En los últimos años se han evaluado otros indicadores como la cantidad de IgA o la concentración de pepsinógeno en sangre como indicador del daño tisular.

En el presente trabajo nos hemos propuesto como objetivo la búsqueda de las regiones genómicas que afectan a la resistencia genética al padecimiento de gastroenteritis producida por tricostrongílidos, en el ganado ovino de raza Churra.

Material y métodos

Material animal

El diseño experimental utilizado ha sido el diseño hija, compuesto por un total de 322 animales pertenecientes a ocho familias de medio-hermanas. Los animales han sido muestreados en siete rebaños del núcleo de selección de la asociación de criadores de ganado ovino selecto de raza Churra (ANCHE).

Marcadores

Se ha optado por la realización de un barrido genómico y para ello se ha analizado un total de 165 microsatélites localizados sobre los 26 autosomas del ganado ovino. El número de marcadores empleado en cada uno de los cromosomas ovinos analizados y el tamaño medio del intervalo entre marcadores se describe en BARILLET *et al.* (2004).

Los microsatélites han sido co-amplificados en una serie de reacciones PCR-multiplex y se han separado mediante electroforesis en un secuenciador semiautomático ABI PRISM 377. La identificación alélica se ha llevado a cabo mediante los programas GeneScan y Genotyper.

Fenotipos utilizados

Como indicadores de resistencia parasitaria se han utilizado los siguientes fenotipos:

- Recuento de huevos por gramo de heces el día 0 del experimento FEC_0.

- Recuento de huevos por gramo de heces el día 60 FEC_{60}.

En ambos casos expresados como logaritmo neperiano del recuento coprológico bruto y corregido para los factores ambientales que han mostrado significación, es decir: rebaño, fecha de muestreo, intervalo entre muestreos, estado fisiológico y edad del animal.

- Concentración de *IgA* séricas.

Estimada mediante la técnica de ELISA y corregida para el intervalo entre muestreos

• Concentración de *pepsinógeno* en sangre

Estimada mediante la técnica fluorimétrica y corregida para el rebaño, época de muestreo, intervalo entre muestreos y proteínas séricas totales.

Análisis estadísticos

La detección de QTLs se ha realizado mediante el modelo descrito por KNOTT *et al.* (1996) utilizando el programa QTLexpress (SEATON *et al.*, 2000). Los niveles de significación *chromosomewise* se han obtenido mediante 10.000 permutaciones de los fenotipos sobre los genotipos.

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presentan los resultados que han superado una significación del 5% *chromosomewise* en el barrido genómico realizado en la raza Churra. Como se puede observar, existen cinco regiones genómicas, pertenecientes a cuatro cromosomas autosómicos, que parecen tener influencia sobre los fenotipos estudiados.

Cuadro 1. Resultados que han superado el nivel de significación del 5% *chromosomewise* en el barrido genómico en la raza Churra

Cromosoma	Posición (cM Haldane)	Carácter	Valor de P *(chromosomewise)*
OAR1	153	FEC_{60}	0,016
OAR1	37	*IgA*	0,038
OAR6	84	FEC_{60}	0,005
OAR9	50	*IgA*	0,048
OAR14	1	FEC_{0}	0,026
OAR20	34	FEC_{60}	0,019

En el cromosoma 1 se han detectado dos regiones distintas que afectan a dos de los caracteres medidos, FEC_{60} e IgA. En la región de 37 cM (proxima al marcador ILSTS044), se ha localizado un efecto que afecta al carácter concentración de IgA. En esta región, y en las proximidades del marcador MCM357, (BEH *et al.*, 2002), han encontrado un QTL con influencia sobre el carácter FEC de *Trichostrongylus columbriformis*. Por su parte, DIEZ-TASCÓN *et al.* (2002), han detectado un posible efecto sobre recuento de huevos en heces de *T. columbriformis* y sobre el número de parásitos adultos en el abomaso. Esta última región coincide con la encontrada en el presente trabajo (37 cM) pero el carácter que ha mostrado evidencia de segregación ha sido el de concentración de IgA. En la zona de 153 cM sí se ha demostrado una clara segregación sobre el recuento de huevos el día 60 post tratamiento, aunque parece una zona claramente alejada de la primera, lo cual puede indicar que en este cromosoma pudiera haber

dos regiones relacionadas con la resistencia a las parasitosis digestivas. Una de ellas afectaría de forma directa a los mecanismos inmunitarios y coincide con los hallazgos de otros autores y otra más centromérica que parece segregar en nuestra población, no habiendo sido descrita hasta ahora.

En el caso del cromosoma 6, hemos detectado una región con una clara influencia sobre el recuento de huevos en heces. Esta región parece ser una candidata muy sólida a ser la portadora de un gen que confiere a los animales resistencia a las gastroenteritis parasitarias, ya que hallazgos similares han sido descritos por varios autores (BEH *et al.*, 2002; DOMINIK *et al.*, 2003). Una situación similar ocurre en el cromosoma 20, donde existen diversos estudios que confirman una asociación positiva entre varias regiones de este cromosoma y los recuentos de huevos en heces. Hay que tener en cuenta que en este cromosoma ovino se localiza el complejo mayor de histocompatibilidad, que es el candidato posicional a verificar en análisis posteriores (STEAR *et al.*, 1996; BEH *et al.*, 2002).

Por lo que respecta a las dos regiones restantes, localizadas en los cromosomas 9 y 14, afectan a los caracteres de concentración de IgA en suero y recuentos en la primera visita a la explotación, respectivamente. No hemos encontrado en la bibliografía ninguna asociación de caracteres de resistencia a los parásitos y zonas de estos cromosomas, por lo que se requiere un estudio más profundo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto *Using genetics to improve the quality and safety of sheep products* "*genesheepsafety*" (QLK5-2000-00656) financiado por la Unión Europea.

Bibliografía

ÁLVAREZ SÁNCHEZ M., 2003. La resistencia de los tricostrongílodos ovinos a los antihelmínticos. Situación en la provincia de León y desarrollo de nuevos métodos para su detección. Tesis Doctoral. Universidad de León.

BEH K.J., HULME D.J., CALLAGHAN M.J., LEISH Z., LENANE I., WINDON R.G., MADDOX J.F., 2002. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to Trichostrongylus colubriformis in sheep. Anim. Genet. 33, 97-106.

BISHOP S.C., DE JONG M.C.M., GRAY G.D., 2002. Opportunities for Incorporating Genetic Elements into the Management of Farm Animal Diseases: Policy Issues. Technical Report Prepared for FAO. http://www.fao.org/ag/magazine/bsp18-e.pdf.

DÍEZ TASCÓN C., MACDONALD P.A., DODDS K.G., MCEWAN J.C., CRAWFORD A.M., 2002. A screen of chromosome 1 for QTL affecting nematode resistance in an ovine outcross population. Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France. Communication 13.37.

DOMINIK S., FRANKLIN I.F., HUNT P.W., 2003. QTL analysis on data for parasite resistance from the CSIRO gene mapping flock. *Genet. Sel Evol* (in press).

GASBARRE L.C., MILLER J.E., 2000. Genetics of helminth resistance. In Breeding for disease resistance in farm animals 2nd edition. Ed. By Axford, R.F.E., Bishop, S.C., Nicholas F.W. and Owen J. B.CABI publishing. Wallingford. UK.

JACKSON F., COOP R.L., 2000. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. Parasitology 120, S95–S107.

PÉREZ J., 2003. Aproximación al concepto fenotipo ovino resistente a la gastroenteritis parasitaria producida por tricostrongílidos en la raza Churra. Tesis Doctoral. Universidad de León.

PERRY B.D., MCDERMOTT J.J., RANDOLPH T.F., SONES K.R., THORNTON P.K., 2002. Investing in animal health research to alleviate poverty. ILRI (International Livestock Research Institute), Nairobi, Kenya, 148 pp.

SEATON G., HALEY C.S., KNOTT S.A., KEARSEY M., VISSCHER P.M., 2002. QTL Express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. Bioinformatics 18: 339-340.

STEAR M.J., BAIRDEN K., BISHOP S.C., BUITKAMP J., EPPLEN J.T., GOSTOMSKI D., MCKELLAR Q.A., SCHWAIGER F.W., WALLACE D.S., 1996. An ovine lymphocyte antigen is associated with reduced faecal egg counts in four-month-old lambs following natural, predominantly Ostertagia circumcincta infection. Int J Parasitol. 26: 423-428.

STEAR M.J., BISHOP S.C., MALLARD B.A., RAADSMA H., 2001. The sustainability, feasibility and desirability of breeding livestock for disease resistance. Res. Vet. Sci. 71, 1-7.

WALLER P.J., 1997. Anthelmintic resistance. Vet. Parasitol. 72, 391-405

WOOLASTON R.R., PIPER L.R., 1996. Selection of merino sheep for resistance to Haemonchus contortus: genetic variation. Anim. Sci. 62, 451-460.

WOOLASTON R.R., WINDON R.G., 2001. Selection of sheep for response to Trichostrongylus colubriformis larvae: genetic parameters. Anim. Sci. 73, 41-48.