

Identificação de polimorfismos de quatro doenças genéticas em Guaymí, Guabalá e raças transfronteiriças no Panamá

Identification of four genetic disorders polymorphisms in Guaymi, Guabala and cross-border races in Panama

DOI: 10.34188/bjaerv4n1-030

Recebimento dos originais: 20/11/2020

Aceitação para publicação: 20/12/2020

Axel Villalobos-Cortés

Doutor em Conservação e Melhoramento Animal pela Universidad de Córdoba, Espanha

Instituição: Instituto de Inovação Agrícola do Panamá

Endereço: Clayton, Cidade do Conhecimento, Edifício 221

E-mail: villalobos.axel@gmail.com

Hilda Castillo Mayorga

Mestrado em Fitopatologia pela Universidade de Hohenheim, Alemanha

Instituição: Instituto de Inovação Agrícola do Panamá

Endereço: Clayton, Cidade do Conhecimento, Edifício 221

E-mail: hildaelenac@gmail.com

Rita González Herrera

Bacharel em Biotecnologia pela Universidad Latina, Panamá

Instituição: Instituto de Inovação Agrícola do Panamá

Endereço: Clayton, Cidade do Conhecimento, Edifício 221

E-mail: ritacarolinagonzalez@gmail.com

RESUMO

Tendo em vista que, no Panamá, grande parte dos programas de melhoramento genético se estabelecem com o uso de germoplasma introduzido, é necessário informar sobre quais doenças genéticas podem estar inadvertidamente circulando, como nas raças crioulas Guaymí panamenhas e Guabalá, portanto, o objetivo deste trabalho é identificar o polimorfismo de quatro doenças genéticas em Guaymí, Guabalá e raças transfronteiriças no Panamá. Foi estabelecida a presença de polimorfismos e frequência alélica de quatro marcadores relacionados a distúrbios genéticos, fator de transcrição da microftalmia (MITF), olho rosa (PE), sindactilia ou pé de mula (LRP4) e gene da queratina 74 (KRT74).) por sequenciamento de próxima geração, NGS. Com algumas exceções, novos polimorfismos de variantes SNP dos genes MITF02, PE, LRP440 e KRT74 foram identificados. No entanto, foi observada ligação ao alelo de MITF89, LRP435, LRP452, LRP431. A raça Guabalá foi a única que apresentou alta frequência gênica no alelo T alternativo do gene KRT74. Este trabalho é apresentado como o primeiro relato de polimorfismos marcadores associados a doenças genéticas no Panamá, para os quais é necessária a expansão e o monitoramento oportuno dos genótipos estudados e não incluídos neste trabalho.

Palavras-chave: bioinformática, biotecnologia, marcadores moleculares, doenças genéticas

ABSTRACT

Considering that, in Panama, a large part of the genetic improvement programs is established through the use of introduced germplasm, information is required on which or which genetic disorders may be inadvertently circulating, as in the Panamanian Creole races of Guaymí and Guabalá, therefore, the objective of this work is to identify the polymorphism of four genetic disorders in Guaymí, Guabala and cross-border breeds in Panama. The presence of polymorphisms and allelic frequency of four markers related to genetic disorders were established, the microphthalmia transcription factor (MITF), pink eye (PE), syndactyly or mule foot, (LRP4) and the keratin 74 gene (KRT74) by next generation sequencing, NGS. With some exceptions, new SNP variant polymorphisms of the MITF02, PE, LRP440 and KRT74 genes were identified. However, allele binding of MITF89, LRP435, LRP452, LRP431 was observed. The Guabala breed was the only one that presented a high proportion in the alternate T allele of the KRT74 gene. This work is presented as the first report of marker polymorphisms associated with genetic disorders in Panama, which requires the expansion and timely monitoring of the genotypes studied and those not included in this work.

Keywords: bioinformatics, biotechnology, molecular markers, genetic disorders

1 INTRODUCCIÓN

El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base del genoma (**Brookes, 1999; Vignal et al., 2002**). Se encuentran distribuidos por todo el ADN de los seres vivos y pueden localizarse tanto en regiones codificantes como no codificantes (**Sachidanandam et al., 2001**). Los avances recientes en la secuenciación de alto rendimiento y la bioinformática han hecho que el uso del marcador tipo SNP sea más popular (**Heaton et al., 2002**).

El color del pelaje ha sido objeto de evaluación debido a que este carácter está asociado con tolerancia térmica, producción y rasgos asociados a la salud. Mutaciones en el gen del factor de transcripción asociado a microftalmia (MITF) conducen a una gran variedad de fenotipos en humanos, ratones y otras especies. En su mayoría afectan la pigmentación y la audición, mientras que, en ratones, pueden causar microftalmia y osteopetrosis (**Wiedemar and Drögemüller, 2014**). En otras especies como perros y caballos, se ha descrito que variantes reguladoras no codificantes del MITF se asocian con manchas blancas en la cabeza y el cuerpo (**Yusnizar et al., 2014**). Además de otros factores genéticos desconocidos, se ha descrito que una variante de SNP del MITF en bovino, contribuye a las diferencias entre los fenotipos manchados y no manchados en el ganado Holstein y Simmental (**Fontanesi et al 2011**). Otras variantes de este gen causan fenotipos de color de capa blanca asociados con malformaciones oculares y auditivas como microftalmia y sordera bilateral respectivamente (**Philipp et al. 2011; Wiedemar and Drögemüller, 2014**). El gen de MITF se encuentra ubicado entre las posiciones 31,735,990-31,769,463 del cromosoma 22 del genoma bovino.

(https://oct2018.archive.ensembl.org/Bos_taurus/Share/d39093c7b8dbc084ff4603d20ae438b5?redirect=no;mobileredirect=no). Una delección *de novo* 19 Mb en las posiciones BTA 22, incluido MITF, conduce a la expresión de microftalmia y la ausencia de pigmentación ha sido reportada en una ternera de la raza Holstein (**Wiedemar and Drögemüller 2014**).

La queratoconjuntivitis infecciosa bovina (QIB), conocida comúnmente como conjuntivitis u Ojo Rosa (**PE**), es una enfermedad bacteriana altamente contagiosa y considerada la enfermedad más importante en el ganado en todo el mundo (**Kizilkaya et al 2013; Angelos 2015**). La QIB es causada por un diplococo gram negativo denominado *Moraxella bovis*, y se caracteriza por lagrimeo constante, inflamación del tejido conjuntival y ulceración de la córnea ya sea en uno o en ambos ojos (**Alexander 2010**). A pesar de que la enfermedad no es mortal las consecuencias de esta, como el dolor ocular y la discapacidad visual resulta en la pérdida del apetito, que afecta el crecimiento con la consecuente disminución del rendimiento, particularmente en sistemas de producción de carne (**Dickey et al., 2018**). Se ha demostrado que existen diferencias entre razas en cuanto a QIB, por ejemplo, en razas *Bos taurus*, la Hereford muestra mayor susceptibilidad que las razas Braunvieh y Simmental y en *Bos indicus* como Brahman, Boran y africanas como la Tuli (**Frisch, 1975; Snowden et al 2005**).

La sindactilia, mejor conocida como pie de mula es un desorden hereditario causado por el gen **LRP4** (LDL receptor Related Protein 4) en el cromosoma 15, es de carácter recesivo y de penetración incompleta, este trastorno se observa principalmente como una fusión de falanges. El pie de mula puede afectar una sola o las cuatro patas, aunque la extremidad delantera derecha se ve afectada con mayor frecuencia, luego la extremidad delantera izquierda, trasera derecha y trasera izquierda (**Cieploch et al., 2017**). Además, este defecto está asociado con la hipertermia resultante del aumento de la temperatura ambiente (**Yadegari et al., 2013**). Aunque la sindactilia no es una condición letal, los animales afectados siempre son sacrificados, por lo tanto, hay una pérdida económica resultante asociada con dicha condición (**Cole et al., 2016**). La sindactilia puede presentarse en razas de leche o de carne como la Holstein, Pardo Suizo, Simmental, Angus, Hereford entre otras (**Cieploch et al., 2017**). Este gen presenta cuatro mutaciones reportadas por **Drögemüller et al. (2007)** localizadas entre las posiciones 77,663,792-77,701 del cromosoma 15 del genoma bovino (https://oct2018.archive.ensembl.org/Bos_taurus/Share/8009bc8676f53f600286523ad7f923c4?redirect=no;mobileredirect=no).

Otro desorden genético de interés en ganadería es el gen de la queratina 74 (**KRT74**) que regula las queratinas, proteínas de filamento intermedio responsables de la integridad estructural de las células epiteliales y se subdividen en queratinas epiteliales y queratinas capilares. Esta proteína

pertenece a una familia de queratinas que se expresan específicamente en la vaina de la raíz interna de los folículos pilosos. El gen **KRT74** se conserva en humanos, chimpancés, monos Rhesus y perros (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene/45489>). Este gen ha sido identificado como responsable de la transmisión autosómica recesiva de una variante rara que causa una displasia ectodérmica de cabello y uñas en humanos y el pelo tipo lanoso, además de propiedades de adaptación a las condiciones de temperaturas bajas y templadas (**Raykova et al 2014; Gautier et al 2016**). En bovinos, el gen KRT74 se localiza entre las posiciones 27,490,704 y 27,490,704 del cromosoma 5 del genoma bovino https://oct2018.archive.ensembl.org/Bos_taurus/Share/35f31815862ffd0bc06ab103c4064807?redirect=no;mobileredirect=no y presenta un polimorfismo en la posición 27,490,704 dentro del mismo (g.27490704C>T) que potencialmente podría estar produciendo desórdenes del folículo piloso en esta especie. Tomando en cuenta que en Panamá, gran parte de los programas de mejoramiento genético se establecen mediante el uso de germoplasma introducido, se requiere información sobre cual o cuales desórdenes genéticos puedan estar circulando de manera inadvertida, al igual que en las razas criollas, por lo tanto, el objetivo de este trabajo es identificar el polimorfismo de cuatro desórdenes genéticos en razas Guaymí, Guabalá y transfronterizas en Panamá.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se estableció la presencia de polimorfismos y frecuencia alélica de cuatro marcadores relacionados a desórdenes genéticos en bovinos MITF, PE, LRP4 y KRT74 mediante secuenciación NGS. EL factor de transcripción asociado a microftalmia presenta dos polimorfismos asociados a los desórdenes genéticos como microftalmia en el ganado, el primero, **MITF02**, (g.31746502C>A) situado en la posición 31,746,502, <https://omia.org/OMIA001680/9913/> y el segundo, **MITF89** (g.31769189T>A) en la posición 31,769,189 ubicados en el cromosoma 22 del genoma bovino utilizando el navegador de genoma, Ensembl, https://oct2018.archive.ensembl.org/Bos_taurus/Variation/Explore?db=core;r=22:31769189-31769189;source=dbSNP;v=rs210634530;vdb=variation;vf=12106311.

El polimorfismo (g.108833985G>A) asociado a **PE** se encuentra ubicado en la posición 108,833,985 del cromosoma 8 en el genoma bovino (Genome Data Viewer versión 4.7.1). En el gen de sindactilia (Low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 4), se estudiaron cuatro polimorfismos, del **LRP435** ubicado en la posición 77,667,135; El de **LRP440**, ubicado en la posición 77,675,440; El **LRP452** localizado en la posición 77,682,052 y el **LRP431**, ubicado en la posición 77,686,731, en el cromosoma 15 del genoma bovino, <https://omia.org/OMIA000963/9913/>. El marcador del gen **KRT74** se encuentra localizado en

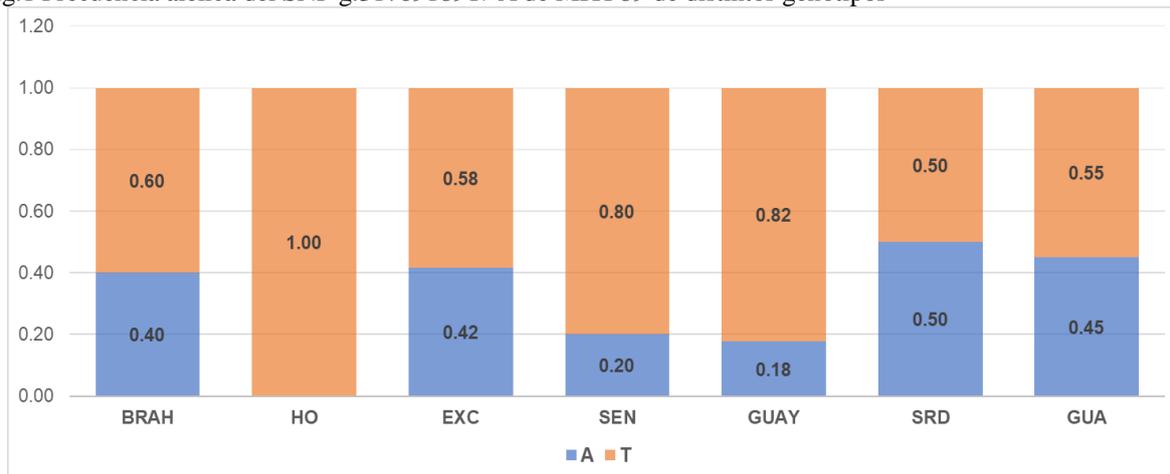
posición 27,490,704 del cromosoma 5,
https://oct2018.archive.ensembl.org/Bos_taurus/Variation/Explore?db=core;r=5:27490704-27490704;source=dbSNP;v=rs382770301;vdb=variation;vf=18153912.

Se tomaron muestras aleatorias de 73 animales de diversos genotipos puros, Criollos (Guaymí, GUY y Guabalá, GUA) transfronterizos (Brahman, BRAH; Holstein, HO y Senepol, SEN) y cruzados (europeo x cebú, EXC e Indefinidos, SRD). Se obtuvieron muestras de sangre en finca de productores colaboradores y en fincas ganaderas del IDIAP, utilizando tubos con EDTA de 5ml. La extracción de ADN se llevó a cabo mediante mini columnas por centrifugación utilizando un kit comercial; el rendimiento de ADN obtenido fue no menor a 30 ng, medido a través de un cuantificador fluorométrico. El análisis de los SNP se realizó mediante el panel reducido de secuenciación Truseq Bovine Parentage de Illumina®, obtenido a partir de un chip de ADN, BovineSNP50 (Matukumalli et al., 2009). La preparación de librerías se realizó siguiendo el flujo de trabajo del fabricante. Una vez amplificadas y normalizadas las librerías, se verificó la calidad mediante un analizador de fragmentos, resultando en un tamaño esperado de entre 200 y 300 bp. Luego se procedió a secuenciarlas utilizando la metodología de amplificación en puente y secuenciación por síntesis en un equipo MISEQ™. Los datos fueron exportados al programa Sequence Genotyper para su procesamiento y análisis. Para evaluar la variabilidad genética dentro de cada población, se calcularon los siguientes parámetros: Equilibrio Hardy-Weinberg, Frecuencia alélica y genotípica, heterocigosis observada (Hob) y esperada (He) e Índice de Shannon mediante el programa Genetix v. 4.02 y Genalex 6.5 (Belkhir et al., 2003; Peakall y Smouse, 2012).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó polimorfismo en ninguno de los genotipos para el marcador MITF02, el SNP obtenido dentro del análisis fue el C que corresponde al gen de referencia. En cuanto al segundo marcador, MITF89, se observó polimorfismo (g.31769189A>T) en todos los genotipos a excepción del Holstein que presentó fijación en el 100% de las muestras el alelo de referencia tipo T (Figura 1).

Fig.1 Frecuencia alélica del SNP g.31769189T>A de MITF89 de distintos genotipos



El resto de los genotipos mostraron el alelo de referencia T y el alterno A con una frecuencia génica total de T=0.66 y A=0.34 y la frecuencia genotípica global fue de TT=0.44, AT=0.45 y AA=0.11. En cuanto a la frecuencia génica por población, la raza con mayor frecuencia de genes de A fue la Guabalá con A=0.45, seguida de la Brahman con A=0.40.

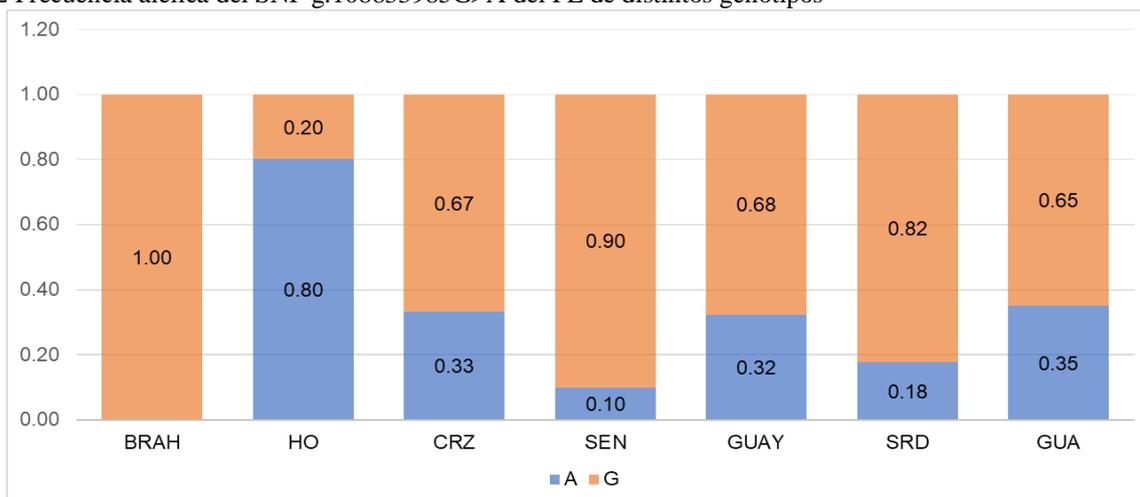
El cuadro 1 muestra las frecuencias genotípicas de las poblaciones evaluadas, donde se observa fijación de homocigosis de TT=1.00 en la raza Holstein, seguida de la Guaymí, TT=0.68 y Senepol TT=0.64. Una baja frecuencia de homocigosis en AA se observó en todos los genotipos. La raza Guabalá presentó los mayores valores de AA=0.20, seguido de la Brahman AA=0.16. Las razas puras con mayor frecuencia de heterocigosis fueron la Guabalá AT=0.50 y Brahman AT=0.48. En el caso de las razas Guaymí y Guabalá, este sería el primer reporte sobre polimorfismo de la variante MITF02 (g.31746502G>T) causante del color blanco dominante y sordera bilateral, encontradas en la raza German Fleckvieh, **Philipp et al., (2011)** sin embargo ni en estas dos razas ni en el resto de los genotipos estudiados se observó este polimorfismo. Por otro lado, la variante MITF89, que ha sido reportada en Holstein y Simmental como una variante regulatoria (g.31769189A>T), en este reporte presentó fijación del alelo T y en el resto de los genotipos, si se presentó el polimorfismo reportado (**Jansen et al., 2013**).

Cuadro.1 Frecuencia genotípica del SNP MITF89 de seis distintos genotipos

GENOTIPO	TT	AT	AA
Holstein	1.00	0.00	0.00
Brahman	0.36	0.48	0.16
Senepol	0.64	0.32	0.04
Guaymí	0.68	0.29	0.03
Guabalá	0.30	0.50	0.20
Europeo X Cebú	0.34	0.49	0.17
SRD	0.25	0.50	0.25

En lo referente al **PE**, la frecuencia génica total fue $A=0.25$ y $G=0.75$ y la frecuencia genotípica total observada para este SNP fue de $AA=0.06$, $AG=0.37$ y $GG=0.57$ con $HWE\ p < 0.05$. Se observó polimorfismo del SNP relacionado al PE en todas las poblaciones a excepción de la Brahman que presentó una fijación del alelo $G=1.00$, seguido de la raza Senepol con $A=0.10$ y $G=0.90$. La raza Holstein mostró una frecuencia génica opuesta con mayor frecuencia del alelo A, con $A=0.80$ y en menor frecuencia el alelo G, con $G=0.20$ (Figura 2).

Fig. 2 Frecuencia alélica del SNP g.108833985G>A del PE de distintos genotipos



Las razas criollas presentaron frecuencias génicas similares, Guaymí $A=0.32$ y $G=0.68$ y Guabalá $A=0.35$ y $G=0.65$. El cuadro 2 muestra las frecuencias genotípicas de las poblaciones evaluadas donde se observa fijación de homocigosis del alelo alterno en la raza Brahman $GG=1.00$ seguida de la Senepol $GG=0.81$, por el contrario, una mayor frecuencia de homocigosis se observó para el alelo de referencia en la raza Holstein $AA=0.64$. Las frecuencias de heterocigotos fueron mayores en las razas Guaymí y Guabalá con $AG=0.44$ y $AG=0.46$ respectivamente y muy similar a lo observado en el genotipo europeo x cebú, ($AG=0.44$). Observando la frecuencia genotípica obtenida en raza Holstein, puede inferirse que individuos puros de esta población en homocigosis del alelo alterno AA tendrían más probabilidad de ser susceptible a infecciones de ojo rosa según lo reporta **Snowder et al. (2005)** y como se ha observado en la incidencia de casos clínicos observados en los individuos muestreados. Sin embargo, este marcador no ha sido reportado en referencias previas, por lo tanto, esta sería la primera vez, particularmente en las razas criollas Guaymí y Guabalá que se detecta este SNP y dada su importancia de este desorden genético y su relación con las ganancias de peso, tendría repercusiones económicas importantes en los programas de mejoramiento genético particularmente en el diseño de sistemas de cruzamiento donde la recombinación alélica podría tener la probabilidad de ser susceptibles o resistentes al PE.

Cuadro.2 Frecuencia genotípica del SNP de PE de seis distintos genotipos

GENOTIPO	AA	AG	GG
Brahman	0.00	0.00	1.00
Holstein	0.64	0.32	0.04
Senepol	0.01	0.18	0.81
Guaymí	0.10	0.44	0.46
Guabalá	0.12	0.46	0.42
Europeo x Cebú	0.11	0.44	0.44
SRD	0.03	0.29	0.67

En cuanto a los marcadores para el gen de sindactilia, se observó fijación de alelos en LRP435, 15:77667135 (C=1.00 T=0.00); LRP452 (g.77682052G>A); G=1.00 A=0.00 y LRP431 (g.77686731G>A), G=1.00 y A=0.00. Se observó polimorfismo en el alelo LRP440, (g.77675440) con una frecuencia génica total de G=0.861 y A=0.139 y genotípica de GG=0.74, GA=0.24 y AA=0.02 con HWE $p < 0.05$. La mayoría de los genotipos presentaron fijación de alelos en G=1.00 y A=0.00. Los polimorfismos observados en este marcador se presentaron en las razas Holstein y Guabalá, las frecuencias génicas fueron más altas para el alelo alterno A=0.800 del Holstein, a diferencia del Guabalá que mostró valores más altos en el alelo G=0.281.

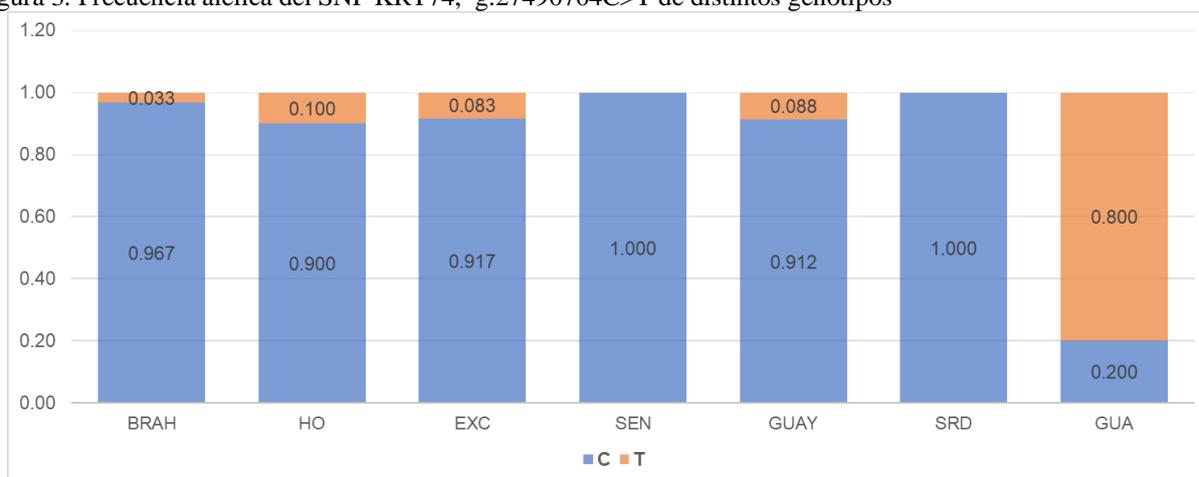
Cuadro 3. Frecuencia genotípica del SNP LRP440 de seis distintos genotipos

GENOTIPO	GG	GA	AA
Brahman	1.00	0.00	0.00
Holstein	0.04	0.32	0.64
Senepol	1.00	0.00	0.00
Guaymí	1.00	0.00	0.00
Guabalá	1.00	0.00	0.00
Europeo x Cebú	1.00	0.00	0.00
SRD	0.67	0.29	0.03

El cuadro 3 muestra la frecuencia genotípica del marcador LRP440; la raza Holstein presenta mayor frecuencia de homocigosis en AA=0.64 seguida del heterocigoto de esta, GA=0.32 a diferencia de los demás genotipos que presentaron alelos monomórficos para GG. El genotipo SRD mostró variabilidad en LRP440, presentando una baja frecuencia de AA=0.03 y casi un tercio de la frecuencia de alelos en heterocigosis GA=0.29 y una alta frecuencia de alelos homocigotos de GG=0.67. La sindactilia se ha reportado en varias razas de ganado, como Holstein, Angus, Simmental, Brown Swiss, Chianina, Criollo japonés, Hariana, Roja Sueca y Negra Checa, aunque se ha trazado su origen a un ancestro común con el Holstein (Duchesne et al 2006). La sindactilia por ser un rasgo de penetrancia incompleta, no necesariamente se observarán animales con la expresión fenotípica, pero si como portadores de los alelos (Drögenmuller et al. 2007). De ahí es importante observar la frecuencia de heterocigotos ya que en sistemas de cruzamientos con razas como la Holstein existiría la probabilidad de recombinación de estos alelos en la progenie.

Presencia de polimorfismo de marcador KRT74 se observó en la mayoría de los genotipos estudiados, la frecuencia génica total para alelo de referencia fue de $C=0.84$ y el alternativo de $T=0.16$ y una frecuencia genotípica de $CC=0.71$, $CT=0.27$ y $TT=0.025$ con $HWE\ p < 0.05$. La figura 3, muestra fijación de alelo C en el genotipo Senepol y SRD $C=1.00$ respectivamente. La raza Brahman presentó los mayores valores del alelo de referencia $C=0.967$ seguido del genotipo EXC con $C=0.917$. La raza Guabalá fue la única que presentó valores contrarios al resto de los genotipos, con los valores máximos del alelo alternativo $T=0.800$.

Figura 3. Frecuencia alélica del SNP KRT74, g.27490704C>T de distintos genotipos



El cuadro 4 muestra la frecuencia genotípica del marcador KRT74 de los genotipos evaluados. Se observa que la raza Brahman presentó los valores de homocigosis más altos con el alelo de referencia $CC=0.935$ seguido del genotipo europeo x cebú $CC=0.841$, la raza Guabalá mostró los valores más altos de homocigosis del alelo alternativo con $TT=0.640$. Los valores de heterocigosis más altos también se encontraron en la raza Guabalá con $CT=0.320$.

Cuadro 4. Frecuencia genotípica del SNP KRT74 de seis distintos genotipos

GENOTIPO	CC	CT	TT
Brahman	0.935	0.0638	0.001
Holstein	0.810	0.1800	0.010
Senepol	1.000	0.0000	0.000
Guaymí	0.832	0.1605	0.008
Guabalá	0.040	0.3200	0.640
Europeo x Cebú	0.841	0.1522	0.007
SRD	1.000	0.0000	0.000

La importancia de este gen está directamente relacionada a los procesos de selección y adaptación a las condiciones de temperatura y humedad que se llevaron a cabo después del Holoceno, cuando ocurrió un cambio de hábitat y sistemas de alimentación en el *Bison bonasus*,

especie estrechamente relacionada al Aurochs (*Bos primigenius*) a nivel nucleotídico (Gautier et al., 2016). Si bien es cierto que, aunque en humanos se relaciona a problemas de pelo lanudo o calvicie (Wasif et al., 2011; Raykova et al., 2014), es muy probable que el gen KRT74 en ganado bovino haya evolucionado a partir de los procesos adaptativos en concomitancia con el *Bison bonasus* hasta nuestros tiempos, siguiendo la teoría de “Síndrome de Domesticación” propuesta por Wilkins et al. (2014). La única raza que presentó una frecuencia genotípica distinta al resto de las poblaciones dentro de este trabajo fue la Guabalá, lo que podría explicarse a un proceso de selección posterior a la llegada de los bovinos a América y la combinación de aislamiento reproductivo y la endogamia producto de la limitada población de machos en los distintos hatos.

4 CONCLUSIONES

Se identificó el polimorfismo del marcador SNP relacionado con el gen MITF89 de microftalmia a excepción de la Holstein, y fijación de alelos en el MITF02 en todos los genotipos dentro de este estudio.

Se identificó un nuevo polimorfismo del SNP de ojo rosa a excepción de la raza Brahman que presentó fijación de alelos.

De los cuatro marcadores del gen de sindactilia, LRP435, LRP452, LRP431 presentaron fijación de alelos, sin embargo, la LRP440 presentó polimorfismo en la raza Holstein.

Se reporta polimorfismo del SNP del gen KRT74 en todos los genotipos a excepción de la raza Senepol que presentó fijación de alelo, particularmente del alelo C.

la raza Guabalá fue la única en presentar alta frecuencia génica en el alelo alterno T. Este trabajo se presenta como el primer reporte de polimorfismos de marcadores asociados a desórdenes genéticos en Panamá, por los que se requiere la ampliación y el seguimiento oportuno de los genotipos estudiados y los no incluidos dentro de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT), al igual que al Sistema Nacional de Investigación (SNI), por el financiamiento del presente trabajo.

REFERENCES

- Alexander, D. Infectious bovine keratoconjunctivitis: a review of cases in clinical practice. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* Nov; 26(3):487-503, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.09.006>
- Angelos, J. Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (Pinkeye). *Vet Clin Food Anim* 31 (2015) 61–79, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.11.006>
- Belkhir, K.; Borsa, P.; Chikhi, L.; Raufaste, N.; Bonhomme, F. Genetix: 4.05 Logiciel sous Windows™ pour la genetique des populations., In U. d. Montpellier, (ed.), 4.05 ed. Laboratoire Genoma Populations, Interactions, Adaptations, Montpellier, France, 2004. <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>
- Brookes, AJ. The essence of SNPs. *Gene* 234(2): 177-186, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X)
- Cieploch, A.; Rutkowska K.; Oprządek, J.; Poławska, E. Genetic disorders in beef cattle: a review. *Genes Genom.* 39:461–471, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13258-017-0525-8>
- Cole, JB.; Null, DJ.; Van Raden, PM. Phenotypic and genetic effects of recessive haplotypes on yield, longevity, and fertility. *J. Dairy Sci.* 99:7274–7288, 2016 <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10777>
- Dickey, AM.; Schuller, G.; Loy, JD.; Clawson, ML. Whole genome sequencing of *Moraxella bovoculi* reveals high genetic diversity and evidence for interspecies recombination at multiple loci. *PLoS ONE* 13(12): e0209113, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209113>
- Drögemüller, C.; Leeb, T.; Harlizius, B.; Tammen, I.; Distl, O.; Holtershinken, M.; Gentile, A.; Duchesne, A.; Eggen, A. Congenital syndactyly in cattle: four novel mutations in the low density lipoprotein receptor-related protein 4 gene (LRP4). *BMC Genet* 8:5, 2007. <https://dx.doi.org/10.1186%2F1471-2156-8-5>
- Duchesne, A.; Gautier, M.; Chadi, S.; Grohs, C.; Floriot, S.; Gallard, Y.; Gaste, G.; Ducos, A.; Eggen, A. Identification of a doublet missense substitution in the bovine LRP4 gene as a candidate causal mutation for syndactyly in Holstein cattle. *Genomics*, 88(5), 610-621, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.05.007>
- Fontanesi, L.; Scotti, E.; Russo, V. Haplotype variability in the bovine MITF gene and association with piebaldism in Holstein and Simmental cattle breeds. *Animal genetics*, 43(3), 250–256, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02242.x>
- Frisch, JE. The relative incidence and effect of bovine infectious keratoconjunctivitis in *bos indicus* and *bos taurus* cattle. *Anim Prod* 21:265–274, 1975. <https://doi.org/10.1017/S0003356100030737>
- Gautier, M.; Moazami-Goudarzi, K.; Levéziel, H.; Parinello, H.; Grohs, C.; Rialle, S.; Kowalczyk, R.; Flori, L. Deciphering the Wisent Demographic and Adaptive Histories from Individual Whole-Genome Sequences. *Molecular biology and evolution*, 33(11), 2801–2814, 2016. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw144>

Heaton, MP.; Harhay, GP.; Bennett, GL.; Stone, RT.; Grosse, WM.; Casas, E.; Keele, JW.; Smith, TP.; Chitko-McKown, CG.; Laegreid, WW. Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle. *Mamm Genome* 13:272-281, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00335-001-2146-3>

Jansen, S.; Aigner, B.; Pausch, H.; Wysocki, M.; Eck, S.; Benet-Pagès, A.; Graf, E.; Wieland, T.; Strom, TM.; Meitinger, T.; Fries, R. Assessment of the genomic variation in a cattle population by re-sequencing of key animals at low to medium coverage. *BMC Genomics* 14:446, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-446>

Kizilkaya, K.; Tait, RG.; Garrick, DJ.; Rohan, L.; Fernando, L.; Reecy, M. 2013. Genome-wide association study of infectious bovine keratoconjunctivitis in Angus cattle. *BMC Genet* 14, 23, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-23>

Matukumalli, LK.; Lawley, CT.; Schnabel, RD.; Taylor, JF.; Allan, MF.; Heaton, MP.; O'Connell, J.; Moore, SS.; Smith, TPL.; Sonstegard, TS.; Van Tassell, CP. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS ONE* 4 (4), e5350, 2009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005350>

Peakall, R.; Smouse, PE. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539, 2012. <https://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>

Philipp, U.; Lupp, B.; Mömke, S.; Stein, V.; Tipold, A.; Eule, JC.; Rehage, J.; Distl, O. A MITF mutation associated with a dominant white phenotype and bilateral deafness in German Fleckvieh cattle. *PloS one*, 6(12), e28857, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028857>

Raykova, D., Klar, J., Azhar, A., Khan, T. N., Malik, N. A., Iqbal, M., Tariq, M., Baig, S. M., & Dahl, N. Autosomal recessive transmission of a rare KRT74 variant causes hair and nail ectodermal dysplasia: allelism with dominant woolly hair/hypotrichosis. *PloS one*, 9(4), e93607, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093607>

Sachidanandam, RD.; Weissman, SC.; Schmidt, JM.; Kakol, LD.; Stein, G.; Marth, S.; Sherry, JC.; Mullikin, BJ.; Mortimore, Willey DL. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409(6822): 928-933, 2001. <https://doi.org/10.1038/35057149>

Snowder, GD.; Van Vleck, LD.; Cundiff, LV.; Bennett, GL. Genetic and environmental factors associated with incidence of infectious bovine keratoconjunctivitis in preweaned beef calves. *J AnimSci*, 83:507-518, 2005. <https://doi.org/10.2527/2005.833507x>

Vignal, A.; Milan, D.; San Cristobal, M.; Eggen, A. A review on SNP and other molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol* 43:275-305, 2002. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-3-275>

Wasif, N.; Naqvi, SK.; Basit, S.; Ali, N.; Ansar, M.; Ahmad, W. Novel mutations in the keratin-74 (KRT74) gene underlie autosomal dominant woolly hair/hypotrichosis in Pakistani families. *Human genetics*, 129(4), 419-424, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00439-010-0938-9>

Wiedemar, N.; Drögemüller, CA. 19-Mb de novo deletion on BTA 22 including MITF leads to microphthalmia and the absence of pigmentation in a Holstein calf. *Anim Genet.* 45(6):868–870, 2014. <https://doi.org/10.1111/age.12213>

Wilkins, AS.; Wrangham, RW.; Fitch, WT. The “domestication syndrome” in mammals: a unified explanation based on neural crest cell behavior and genetics. *Genetics* 197:795–808, 2014. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.165423>

Yadegari, M.; Vahed, E.; Ashtari, M.; Tavakol, S.; Khamesipour, F. Report of congenital syndactyly (mule foot) in cattle. *Global Veterinaria* 10 (4): 464-466, 2013. [http://www.idosi.org/gv/gv10\(4\)13/17.pdf](http://www.idosi.org/gv/gv10(4)13/17.pdf)

Yusnizar, Y.; Wilbe, M.; Herlino, AO.; Sumantri, C.; Noor, RR.; Boediono, A.; Andersson, L.; Andersson, G. Microphthalmia-associated transcription factor mutations are associated with white-spotted coat color in swamp buffalo. *Animal genetics*, 46(6), 676–682, 2015. <https://doi.org/10.1111/age.12334>