

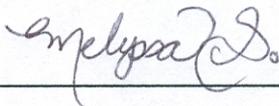
Instituto Tecnológico de Sonora

Presente.

El que suscribe Melisa de los Ángeles Siqueiros Martínez, por medio del presente manifiesto bajo protesta de decir verdad, que soy autor y titular de los derechos de propiedad intelectual tanto morales como patrimoniales, sobre la obra titulada: "Asociación del gen de la proteína plasmática ligada a la preñez A2 (PAPP-A2) con la producción de leche y fertilidad del ganado Holstein manejado bajo un clima cálido", en lo sucesivo "LA OBRA", misma que constituye el trabajo de tesis que desarrolle para obtener el grado de Médica Veterinaria Zootecnista en ésta casa de estudios, y en tal carácter autorizo al Instituto Tecnológico de Sonora, en adelante "EL INSTITUTO", para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios del objeto del Instituto, es decir, sin fines de lucro, por lo que la presente autorización la extiendo de forma gratuita.

Para efectos de lo anterior, EL INSTITUTO deberá reconocer en todo momento mi autoría y otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente en LA OBRA.

De igual forma, libero de toda responsabilidad al EL INSTITUTO por cualquier demanda o reclamación que se llegase a formular por cualquier persona, física o moral, que se considere con derechos de autor sobre los resultados derivados de la presente autorización, o por cualquier violación a los derechos de autor y propiedad intelectual que cometa el suscrito frente a terceros con motivo de la presente autorización y del contenido de la misma obra.



Melisa de los Ángeles Siqueiros Martínez





INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
Educar para Trascender

**“ASOCIACIÓN DEL GEN DE LA PROTEÍNA PLASMÁTICA LIGADA A LA
PREÑEZ A2 (PAPP-A2) CON LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y FERTILIDAD
DEL GANADO HOLSTEIN MANEJADO BAJO UN CLIMA CÁLIDO”**

Proyecto de Tesis
que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista

Presenta

Melisa de los Ángeles Siqueiros
Martínez

Ciudad Obregón Sonora; Diciembre del 2013

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mis padres, Alfonso Siqueiros Palomares y Angelina Martínez Barreras, por estar siempre apoyándome y dándome consejos pero sobre todo por su infinito amor y comprensión, son los mejores padres que la vida pudo darme.

A mis hermanos Alfonso, Jesús, Israel, Adán y Pablo... quienes han estado conmigo compartiendo experiencias y apoyándome a crecer a pesar de nuestras diferencias, así como regalándome la satisfacción de ser tía de Ángel Israel y Alan Alfonso, quienes llegaron a esta vida con la misión de alegrarme la vida y hacerme enojar también, dependiendo de la travesura.

A mis tíos Ángel Siqueiros Palomares e Irma Neguive Murrieta Obregón, quienes asumieron conmigo un papel de padres, gracias por ser mis cómplices en todo y por todos sus consejos y bendiciones... aguja aguja!, Oh si! Siempre conmigo chavalón.

A la Sra. Martha Elena Trevizo Tellechea, quien es para mi la mamá que tngo en Cd. Obregon, te adoro mi hermosaaaaaa!! Ñuñuñuñu...

Al personal ITSON, Pedro Antonio Rivas, Gerardo Antuna, Luis Garcia, Doña Micha, Patty, Gris y Erika (mis rorras) gracias por escucharme y estar para mi siempre.

A mis niños Edna Myriam, Alexia Guadalupe, Amador (Mololo) y Ricardo Ronquillo Gonzalez, quienes ocupan un lugar muy importante en mi vida y han sido parte de ella, así como inyectarle chispa a mi vida en mi estancia en Cd. Obregón, gracias por todas las alegrías compartidas.

A mis amigos principalmente a Rosina Figueroa, Mercedes Cantúa, Nereyda Félix, Lupita González, Cinthya Soto, Lili Islas, Andrea García, Claudia Ponce, Toñy Barreras, Alexia Ronquillo, Jenny Zavala, Prince Pérez (GHLM!) y a mi súper amiga de universidad Damaris Gastelum, Airon Von, Manuel Arias, mis compañeros de cabalgatas José Juan e Irving Ortega, Gerardo Peñuñuri, Juan Laurence Perla (wenchi), José Luis Vidaurrezaga, Alberto Urtusuastegui, mi compadre Mario Mendivil, mi chaparrito Efraín Rodríguez, José María Gómez, Paul Cosamen Loachamin y Joaquín Bustamante... gracias por estar siempre conmigo y por ser más hermanos que la vida me otorgo.

A mi maestra Evalia Gómez Pinedo con quien tuve la dicha de coincidir en 4to de primaria y quien me enseñó a seguir mis sueños con una frase que siempre mencionaba: Nunca digas no puedo sin haberlo intentado.

A mis mascotas Cleopatra, Capehui, Matute, Niurka, Juana Liliana y Choki, que lograron despertar en mi el amor por los animales y que fueron un motivo para que decidiera estudiar esta carrera.

Y a esas personas que comenzaron conmigo este sueño pero que por razones de la vida ahora me cuidan desde el cielo, me refiero a mi abuelita: María Luisa Barreras Franco, mis primos René Ochoa Martínez, Miguel Ángel Siqueiros Murrieta y al mejor tío que pude tener Ángel Siqueiros Palomares.

Solo me queda decirles que los extraño mucho y que les doy gracias por todos sus consejos mismos que se quedaron conmigo para siempre.

AGRADECIMIENTOS

Dios mío te doy las gracias por cada paso de mi camino, por cada lugar a donde he llegado, por cada persona que me has permitido conocer, por protegerme, ser mi guía y darme fuerzas necesarias para tomar de la mejor manera mis decisiones y poder aprender de las pruebas que me mandas y por llenar mi destino de gente maravillosa.

Gracias a mis maestros de M.V.Z. ITSON Dr. Jesús Raymundo Cedillo Covián, Dr. José María Aceves Gutiérrez, Dr. Marco A. Oroz, Ing. Luis Alfonso García, Dr. Ramón Miguel Molina Barrios, Dr. José Florentino Torres, Dr. Sergio Manuel Fernández, Dr. Ruben Borbolla, Dra. Reyna Osuna Chávez y a mi adorada Dra. Nora Alejandrina López Salinas, gracias por compartir conmigo parte de su vida y de su tiempo.

A mi gran maestro de cirugía Dr. Leopoldo Zavala Leal, gracias médico por ser para mí una gran enseñanza de vida, gracias por el cariño que usted y su familia tan amablemente siempre tuvieron hacia mí.

Al Dr. Pablo Luna Nevárez, quien además de ser un gran maestro es una persona de espíritu noble siempre dispuesto a ayudar, gracias por las oportunidades médico, por sus consejos, su paciencia y por enseñarme que LO IMPOSIBLE NO EXISTE!!, que siempre debemos estar preparados para volar. Gracias de todo corazón.

De igual manera al Ingeniero Blas Holguín, por la accesibilidad mostrada al personal del Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción permitiéndonos efectuar proyectos de investigación en su establo lechero llamado “El Llano”.

Gracias vida por enseñarme que sin duda alguna cada quien construye su destino, que Nada te turbe, nada te espante, la paciencia todo lo alcanza y quien a Dios tiene nada le falta, solo Dios basta.

RESUMÉN

Melisa de los Ángeles Siqueiros Martínez. Asociación del gen de la proteína plasmática ligada a la preñez a2 (PAPP-A2) con la producción de leche y fertilidad del ganado Holstein manejado bajo un clima cálido. Asesor: Ph.D. Pablo Luna Nevárez.

El objetivo de éste estudio fue descubrir polimorfismos del gen de la PAPP-A2 relacionados con el comportamiento productivo utilizando tecnologías moleculares para identificar las vacas Holstein con mayor habilidad genética para la producción de leche bajo un clima cálido.

En el presente estudio se seleccionó una población de 261 vacas de la raza Holstein, el ganado presentó condiciones homogéneas en cuanto a condición corporal, producción y origen. Los animales se encontraban alojados en corrales de manejo intensivo, con acceso libre al agua y sombra, recibiendo una ración integral para cubrir sus necesidades nutricionales de acuerdo a su peso y etapa productiva. Para la extracción de ADN de cada vaca (n=261) del estudio, se realizó una punción en la vena coccígea usando una jeringa (estéril) de 3 ml por animal. Inmediatamente, tres a cuatro gotas de sangre se distribuyeron uniformemente en tarjetas "Blood-cards™". Las tarjetas se identificaron (fecha/arete/hato) y se conservaron a temperatura ambiente en el Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción del ITSON, para ser posteriormente enviadas al Laboratorio Neogen/GenSeek Inc., USA, donde se procesaron para la extracción y cuantificación de ADN. El ADN resultante de cada una de las vacas muestreadas, así como los derivados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) obtenidos como producto de la re-secuenciación (amplicones) de cada uno de los genes a analizar, fueron utilizados para realizar un estudio de discriminación alélica de los genotipos correspondientes a cada polimorfismo por medio de la plataforma comercial "SequenomMassArray"

ÍNDICE

Dedicatoria.....		iii
Agradecimientos.....		v
Resumen.....		vi
I.	INTRODUCCIÓN.....	9
1.1	Antecedentes.....	9
1.2	Planteamiento del problema.....	12
1.3	Objetivo.....	12
1.4	Justificación.....	12
1.5	Hipótesis.....	13
II.	MARCO TEÓRICO.....	14
2.1	Comportamiento de la vaca Holstein en un ambiente cálido.....	14
2.1.2	Mecanismos de Intercambio de calor	15
2.1.3	Ambiente óptimo para el ganado lechero.....	15
2.1.4	Estrés calórico en el ganado Holstein.....	17
2.1.5	Temperatura y humedad.....	17
2.1.6	Cambios bioquímicos y hormonales.....	20
2.1.7	Cambios fisiológicos.....	20
2.1.8	Alterativas para controlar el estrés calórico.....	22
2.1.9	Participación del gen PAPP-A2 en la productividad del ganado.....	24

III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1	Población animal.....	25
3.2	Recolección y manejo de muestras de ADN.....	26
3.3	Identificación de genes y polimorfismos a identificar.....	26
3.4	Análisis asociativo.....	27
3.5	Substitución de alelos	28
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
V.	CONCLUSIONES.....	36
VI.	LITERATURA CITADA.....	38

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Al noroeste de nuestro país la producción de carne y leche es una actividad representativa, sin embargo la temperatura y humedad relativa en esta zona geográfica son factores que cada año modelan el desempeño productivo de la vaca lechera (Correa *et al.*, 2009; Leyva *et al.*, 2012). Al rebasar los requerimientos térmicos el ganado lechero cae en una situación conocida como estrés calórico. Bajo esta condición de mecanismos se desencadena una serie de eventos fisiológicos, endócrinos y de comportamientos con el objetivo de mitigar la carga de calor, lo que la conduce al descenso (West, 2003). El ganado Holstein desempeña mejor su actividad lechera entre los 7°C y los 18°C (Hahn, 1999); para lo cual a través de investigación se han generado soluciones para hacer más confortable el medio ambiente y mantener un balance térmico del animal en condiciones cálidas y mejorar con ello la producción de leche.

Se conocen tres alternativas para combatir el estrés calórico en la vaca lechera; una forma es modificando el contenido nutricional y hora de ofrecimiento de la dieta de la vaca (West, 1992). La segunda de estas es la construcción de instalaciones adecuadas con techos altos que proporcionen buena sombra que se combinan con enfriamiento artificial en zonas críticas como comedero, área de espera y de descanso (Correa y Do Amaral, 2009; Leyva, 2012). Se busca que una vez creado este ambiente, el animal pueda expresar de una manera más productiva su capacidad genética. En la última alternativa se logra obtener implementando las tecnologías moleculares, permitiendo combinar información fenotípica para mejorar la precisión y confiabilidad de los sistemas de evaluación genética recientes en el descubrimiento de la secuencia genómica del ADN y la identificación de una gran cantidad de marcadores moleculares, han permitido incrementar y agilizar el mejoramiento genético animal; estas herramientas permite estudiar poblaciones y seleccionar aquellos individuos que presentan rasgos de interés económico para el hombre, incluso antes de que expresen ese rasgo de interés (Dekkers *et al.*, 2004; Van Raden *et al.*, 2009).

Para seleccionar animales con características genéticas deseables en una explotación, es necesario conocer el tipo de marcador que se desea encontrar y con quien interacciona para su funcionamiento (Manolio y Pearson 2008;). En algunas investigaciones se ha encontrado un sitio conocido como “slick-hair”, el cual se caracteriza fenotípicamente con un pelo liso, delgado y brillante, favoreciendo el intercambio de calor en la vaca y ha quedado comprobado que en estos animales los efectos negativos del estrés calórico se dan en menor intensidad (Dikmen, *et al.*, 2008).

Se han registrado variantes o polimorfismos para un mismo gen, donde a través de estudios asociativos es posible identificar cual se relaciona en mayor medida. Cabe mencionar que los genes no trabajan individualmente, sino que interaccionan en armonía, uno de los enfoques de las tecnologías moleculares ha sido la identificación de genes candidatos y variantes moleculares de los mismos, que se caracterizan por su habilidad para influir en la expresión de caracteres fenotípicos complejos a los que se asocian funcionalmente, o por su cercana localización a una región genómica asociada a dichos caracteres (Luna, Rincón *et al.*, 2012). Una gran ventaja de las tecnologías moleculares, es la posibilidad de mejorar la selección para caracteres fenotípicos difíciles de evaluar por los métodos tradicionales de mejoramiento, en el caso del gen de PAPP-A2 permite desarrollar un estudio de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) donde se muestran asociaciones positivas con facilidad del parto, la vida productiva, la producción de leche, y proteína (Wickramasinghe, *et al.*, 2011).

Es conocido que al noroeste de nuestro país existen condiciones de humedad y temperatura elevadas durante el verano que alteran el equilibrio productivo del ganado. Se han realizado estudios que muestran que el potencial genético de algunas vacas que aún bajo elevadas temperaturas siguen produciendo leche sin mostrar un gran esfuerzo para ello (Ariasa, *et al.*, 2008).

La asociación del gen PAPP-A2 con la información productiva y reproductiva de la vaca durante el verano, permitirá entender que mecanismo del mismo para regular la tolerancia de la vaca ante una situación de estrés calórico y su capacidad de continuar con la producción de leche en condiciones adversas de calor.

1.2 Planteamiento del problema

Conforme aumenta la temperatura ambiente en el norte del país, las vacas muestran mayor ineficiencia en realizar intercambios de calor corporal con el medio que las rodea, hasta llegar al estrés calórico, provocándole al animal problemas nutricionales, productivos y reproductivos. En el sur de Sonora no solo disminuye la producción de leche, se ha demostrado también que afecta a las vacas secas, que paren becerros más livianos y presentan más problemas al parto (Ej. retención de placenta y mastitis). Los celos son más cortos y menos intensos, y padecen con más facilidad de mortalidad embrionaria. Provoca disminución de consumo de alimento y, por ende, disminución de la producción de leche y aumento de ingestión de agua.

1.3 Objetivo

Descubrir polimorfismos del gen de la PAPP-A2 relacionados con el comportamiento productivo utilizando tecnologías moleculares para identificar las vacas Holstein con mayor habilidad genética para la producción de leche bajo un clima cálido.

1.4 Justificación

La producción de leche del ganado Holstein sufre una reducción de hasta un 20% durante los meses de verano en el estado de Sonora debido al estrés calórico. Adecuaciones en la dieta y modificación de instalaciones han sido utilizadas como estrategia para mitigar los efectos adversos del estrés calórico; sin embargo, aún así los parámetros de producción se ven afectados por el calor extremo. Por ello, es importante la utilización de novedosas tecnologías que permitan identificar con

precisión las bases genéticas de la producción de leche y la resistencia al estrés calórico en el ganado Holstein manejado bajo condiciones de estrés calórico.

Mediante el estudio de marcadores moleculares es posible identificar animales que muestran una mayor producción de leche durante los meses más cálidos del año, lo que hace suponer que tienen un umbral de resistencia al estrés calórico más alto que otras vacas. De esta forma se obtendrán los animales genéticamente más valiosos, que serán los candidatos a ser incluidos en los programas de selección genética.

1.5 Hipótesis

Se espera descubrir marcadores moleculares del gen de la PAPP-A2 asociados a la producción de leche de vacas Holstein manejadas bajo condiciones de calor extremo como las que prevalecen durante la época de verano en el estado de Sonora. Dichos marcadores se espera que brinden a la vaca la capacidad de expresar y heredar la sostenibilidad de la producción de leche bajo condiciones de estrés calórico.

II. MARCO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Comportamiento de la vaca Holstein en un ambiente cálido.

Se ha comprobado que las vacas de la raza Holstein en climas cálidos no suministran las mismas producciones que en clima templado debido a la temperatura y humedad ambiental elevadas. Bajo estas condiciones, los animales responden a los estímulos físicos y climáticos de sus alrededores, generando respuestas fisiológicas que conllevan la disminución de la ingestión de alimentos, generando la pérdida de peso de las vacas, provocando trastornos en su comportamiento productivo. Esta cadena de trastornos se debe a la actuación del hipotálamo sobre las fibras nerviosas simpáticas de la ubre, limitando el suministro de sangre e inervación de la musculatura lisa de los conductos colectores y del pezón, provocando una vasoconstricción que ocasiona un efecto inhibitorio de la producción láctea ya que la adrenalina obstaculiza la acción de la oxitocina. Esto es ocasionado provocada por el incremento de la temperatura corporal de las vacas (Bodisco, Manrique, *et al.*, 1973).

2.1.2 Mecanismos de intercambio de calor en la vaca lechera

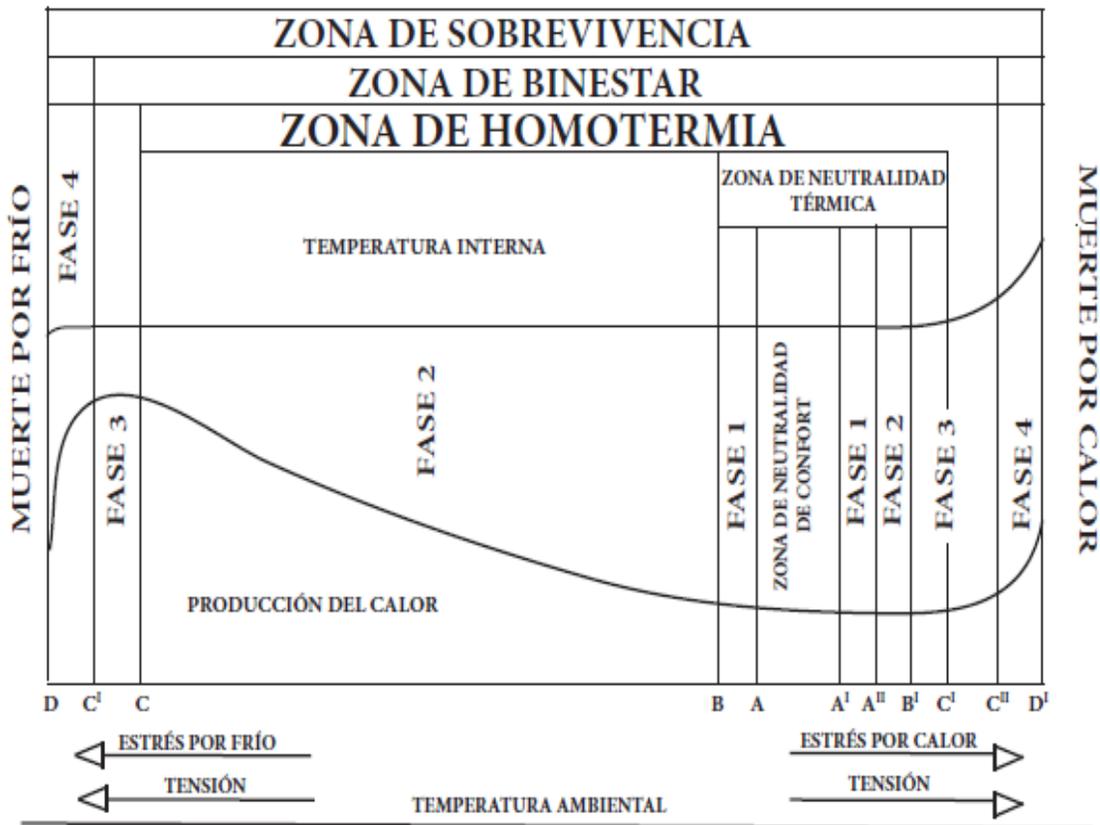
La homotermia se define como el intervalo de temperatura ambiental donde la temperatura corporal del animal es constante, cuando esta se eleva por arriba de la zona termoneutral, operan los mecanismos de defensa para evitar la acumulación de calor a través de la vasodilatación general, sudoración y jadeo (Arreondo, *et al.*, 2000). La termorregulación le permite al animal conservar la temperatura corporal en las condiciones variables del ambiente. La disipación del calor en estos animales es realizada a través de la radiación, conducción, convección y evaporación.

2.1.3 Ambiente optimo para el ganado lechero.

Berman (2005) define a la “zona de termoneutralidad” como el rango de Temperatura Ambiente Efectiva (TAE) donde la producción normal de calor del organismo compensa las pérdidas al ambiente, sin incrementar la tasa de calor corporal producido. Es en esta zona donde se distinguen tres sub-zonas: La “zona óptima”, donde la productividad, la eficiencia y el rendimiento del animal son máximos; por debajo de esta zona se encuentra la “zona fría” donde el animal utiliza mecanismos fisiológicos y posturales para conservar el calor (vasoconstricción periférica, cambios en la orientación del cuerpo, piloerección) pero la tasa metabólica permanece constante; por encima de la zona óptima y la “zona cálida” donde el animal aumenta la pérdida de calor sin gasto energético añadido.

El rango de la ZT en vacas lactando va de 4 a 24°C y de -14 a 27°C para vacas en etapa de secado. Para una vaquilla entre 12 y 24 meses de edad la ZT se

localiza entre -5 a 27°C y de 10 a 26°C en una becerra. Otros autores mencionan que la temperatura ideal para la vacas Holstein se localiza en -2 a 23.9°C (Hahn, 1999).



Esquema de presentación de las zonas de supervivencia, bienestar y homotermia en relación a las condiciones ambientales de los rumiante (Silanikove, 2000).

2.1.4 Estrés calórico en el ganado Holstein

Es un factor determinante en el incremento de la producción de leche debido a que los factores climáticos intervienen en el incremento de la temperatura corporal del animal rebasando las condiciones que requiere, ocasionando un desequilibrio en sus actividades fisiológicas, incrementando la tasa respiratoria, sudoración y jadeo. El impacto climático sobre la eficiencia productiva de la vaca tiene un impacto directo actuando de la siguiente forma:

- 1.- Por receptores a través de la piel de la vaca que le permiten canalizar los estímulos neuro-endócrinos vía hipotálamo-hipófisis.
- 2.- Por cambios de temperatura de la piel incrementando la temperatura del flujo sanguíneo.
- 3.- Por cambios de temperatura del cuerpo que resultan alteraciones del metabolismo del animal.

Mientras tanto el efecto indirecto se relaciona con la disponibilidad de alimentos y con alteraciones de la salud. La vaca deberá mantener un balance entre el calor metabólico y la pérdida de este a través de la termorregulación (Hanh, 1999).

2.1.5 Temperatura y humedad

Góngora y Hernández, (2010); mencionan que la temperatura, el viento y la humedad relativa que caracterizan el clima de una región, junto a una alta

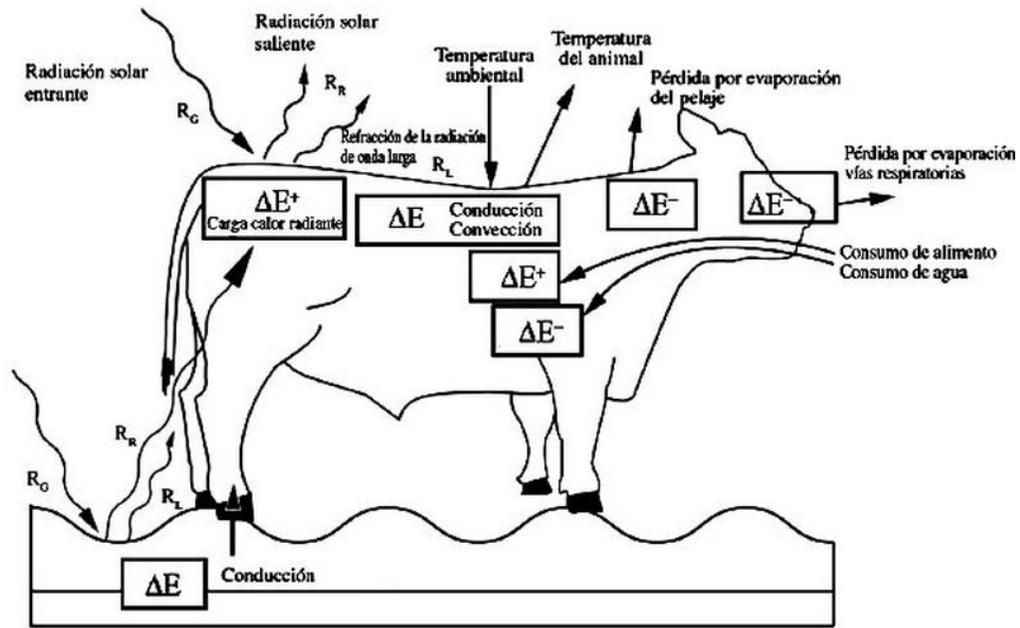
producción de leche generan en el animal un ambiente competitivo ya que mientras se esfuerza para producir, a la vez trata de mantener la temperatura corporal afectando así el bienestar y el rendimiento dentro de un rango necesario para la supervivencia, ya que el nivel de producción del animal influye fuertemente en la cantidad de calor que produce, por lo tanto el consumo de alimento disminuye, aumenta el del agua, normalmente se eleva la temperatura corporal y se incrementa el ritmo respiratorio. Algunos de estos efectos son antagónicos a la producción de leche y deben ser superados para sostener en el verano una alta producción (West, 1992).

La energía radiante solar puede aumentar la carga de calor en una vaca sin sombra por encima de su propia producción de calor metabólico. Para lograr el bienestar del animal es necesario el balance entre la producción de calor, la ganancia de calor desde el medio ambiente y la pérdida de calor hacia el medio ambiente. El ganado instintivamente regula los intercambios de calor con el medio ambiente al alterar su posición para aumentar o reducir el área de exposición a la fuente de calor y al viento, o bien al incrementar su tasa respiratoria (jadeo) para aumentar la pérdida de calor debido a la evaporación de agua (Ariasa y Mader, *et al.*, 2008).

La Temperatura ambiental es la variable más utilizada como indicador de estrés. Khalifa, (2003) definió la temperatura ambiente efectiva de confort para el ganado como el estado constante de temperatura corporal, la cual puede ser mantenida sin necesidad de ajustes fisiológicos o de comportamiento. Por esta razón, el promedio de la temperatura ambiente es generalmente considerado como la principal medida térmica utilizada para estimar confort.

Humedad relativa. La humedad relativa (HR) es un factor de potencial estrés en el ganado, ya que acentúa las condiciones adversas de las altas temperaturas (Da Silva, 2006). Los principales efectos de la HR están asociados con una reducción de la efectividad en la disipación de calor por sudoración y respiración (Blackshaw, 1994, Renaudeau 2005). Sin embargo, el ITH no da cuenta de importantes factores climáticos como la radiación solar y la velocidad del viento ni tampoco incluye factores de manejo productivo o de genotipo animal (Gaughan, 2007).

La velocidad del viento reduce los efectos del estrés por calor durante el verano mejorando los procesos de disipación de calor por vías evaporativas (Mader *et al.*, 1999); esta respuesta depende del estado en que se encuentra la piel del animal, es decir, seca o húmeda, la transferencia de calor es más eficiente cuando la piel esta húmeda que cuando está seca. Mientras tanto la radiación solar (directa e indirecta) afecta el balance térmico en el ganado (Silanikove, 2000); generando un fuerte impacto en la carga total de calor. Esta misma tiene un impacto directo en la temperatura rectal y la tasa de respiración (Collier *et al.*, 2008).



Balance térmico en el ganado bovino. (adaptado Meat & Livestock Australia, 2002)

2.1.6 Cambios bioquímicos y hormonales.

Según Correa *et al.*, (2002), el estrés calórico ocasiona cambios bioquímicos donde se incluyen alteración de los valores hemáticos, descenso de la glucemia, descenso de la urea sanguínea y modificación de la actividad de las enzimas séricas.

Los cambios hormonales que ocurren como respuesta al estrés por calor se involucran en el descenso de la productividad. La secreción y la concentración plasmática de hormona somatotropina se reducen a altas temperaturas. Los niveles de hormonas tiroideas descienden posiblemente en un intento de reducir el ritmo metabólico. El aumento de la adrenalina y noradrenalina indican la respuesta

a una situación de estrés (West, 1999). La concentración de aldosterona sérica disminuye favoreciendo la conservación de potasio pero aumentando la eliminación renal de sodio (Schneider, 1984). En conjunto, los diversos cambios originados en el organismo como respuesta al estrés por calor reducen los rendimientos lecheros del ganado por efecto a nivel fisiológico y metabólico. El principal cambio es la reducción del consumo de alimentos, con la consiguiente disminución de los nutrientes disponibles, al tiempo que se incrementa el gasto basal de energía debido al jadeo. La modificación del equilibrio ácido-base y la reducción de los minerales disponibles, particularmente potasio, también afectan sensiblemente los resultados productivos.

2.1.7 Cambios fisiológicos

Dentro de los principales cambios fisiológicos observados se menciona el aumento en la tasa de respiración, pulso, sudoración y vasodilatación. El aumento en la tasa de respiración tiene por objeto aumentar la pérdida de calor por las vías respiratorias y mantener el balance térmico durante el verano (Martínez, 2006); esta se encuentra en proceso de jadeo, siendo así la tasa de respiración un mecanismo a considerar al evaluar el nivel de estrés por calor del ganado. Valores de 20 a 60 exhalaciones por minuto (epm) son consideradas normales, pero cuando la temperatura ambiental aumenta por sobre los 25 °C aumenta también la tasa de respiración pudiendo llegar a valores por sobre las 200 epm. El jadeo demanda un aumento en los requerimientos de mantención en aproximadamente un 7%, mientras que un incremento del 18% es asociado a tasas de respiración más pausadas y profundas (NRC 1981). . Morales *et al.*, (2003) señala que el mayor costo energético responde a un incremento en el metabolismo celular e indica que tanto la tasa de respiración como la temperatura corporal son las principales variables afectadas en relación con los procesos termorregulatorios.

Grados		HUMEDAD RELATIVA																							
F	C	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55	0.60	0.65	0.70	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	1			
72	22.2																						72	72	
73	22.8																								
74	23.3																								
75	23.9																								
76	24.4																								
77	25																								
78	25.6																								
79	26.1																								
80	26.7																								
81	27.2																								
82	27.8																								
83	28.3																								
84	28.9																								
85	29.4																								
86	30																								
87	30.6																								
88	31.1																								
89	31.7																								
90	32.2																								
91	32.8																								
92	33.3																								
93	33.9																								
94	34.4																								
95	35																								
96	35.6																								
97	36.1																								
98	36.7																								
99	37.2																								
100	37.8																								
101	38.3																								
102	38.9																								
103	39.4																								
104	40																								
105	40.6																								
106	41.1																								
107	41.7																								
108	42.2																								
109	42.8																								
110	43.3																								
111	43.9																								
112	44.4																								
113	45																								
114	45.6																								
115	46.1																								
116	46.7																								
117	47.2																								
118	47.8																								
119	48.3																								
120	48.9																								
121	49.4																								

Esquematzación de los niveles de estrés calórico en base a la combinación del efecto de la temperatura y humedad. (Adaptado por Armstrong, 1994).

2.1.8 Alterativas para controlar el estrés calórico

Dentro de las medidas para contrarrestar el efecto del estrés calórico se mencionan cambios en la dieta y en los horarios de alimentación, suministrando el 70% de la dieta dos a cuatro horas después de alcanzar la temperatura máxima

diaria (Davis, 2003). Reduciendo el suministro de materia seca o de la energía total se ha demostrado que susceptibilidad a estrés por calor desciende, por lo cual hay que suministrar comidas frescas para favorecer su consumo (Mader, 1999). Otras técnicas factibles son:

- Acceso a fuentes de agua; el consumo de agua es una de las formas más rápidas y eficientes por las que el animal reduce su temperatura corporal.
- Durante el verano esta es prácticamente duplicada respecto al consumo de invierno. Su alto calor de vaporización permite al animal transferir una importante cantidad de calor al ambiente con pequeños volúmenes a través del sudor y la orina.
- Se debe evitar el movimiento de los animales; ya que puede incrementar la temperatura corporal entre 0,5 evitar el movimiento del ganado o hacerlo en las horas más frescas del día.
- Mejorar la ventilación, bajas velocidades del viento reducen las pérdidas de calor por evaporación, incrementando la carga de calor y aumentando los requerimientos de mantención. También pueden utilizarse rociadores para incrementar la pérdida de calor por evaporación. La ventilación mecánica

generalmente se basa en ventiladores de tamaño adecuado que extraen el aire hacia afuera de la instalación y llevan aire fresco a través de aberturas de tamaño adecuado (Homan y Matiux 1996).

- El uso de sombra es una de las medidas de mitigación que mayor atención ha recibido, ya que reduce el impacto de la radiación directa e indirecta y con ello disminuye la carga de calor que los animales reciben. Es necesario considerar en el diseño de la instalación: orientación y localización; aberturas superiores y laterales; pendiente del techo; aberturas y altura de las paredes laterales.

2.1.9 Participación del gen PAPP-A2 en la productividad del ganado

El gen Proteína Plasmática A, Asociada a la Preñez (PAPP-A2) es un candidato en el eje GH – IGF ya que transcribe una metaloproteinasa la cual participa específicamente en la unión de IGFBP-4 e IGFBP-5 y aumenta la disponibilidad de IGF-I e IGF-II (Bayes *et al.*, 2005; Boldt y Conoveret, 2007). Esta proteasa ha servido como un biomarcador de resultados adversos en la preñez y su expresión fue encontrada en el suero, ovarios, placenta, embrión y feto en ratones y seres humanos (Wang, *et al.*, 2009).

El PAPP -A2 se localiza en el cromosoma 16 en el ganado bovino y sus genotipos SNP se asociaron con rasgos indicativos de la producción de leche y salud reproductiva donde además se heredan las características favorables como facilidad de parto, rendimiento productivo incrementando la cantidad y calidad de leche, así como de la proteína presente en la misma (Wickramasinghe *et al.*, 2011).

III.- MATERIALES Y METODOS

3.1 Población animal

Se seleccionó una población contemporánea de 261 vacas de la raza Holstein del establo comercial “El Llano”, ubicado en el Block 1114 del Valle del Yaqui, Sonora. El ganado presentó condiciones homogéneas en cuanto a condición corporal, producción y origen. Los animales se encontraban alojados en corrales de manejo intensivo, con acceso libre al agua y sombra, recibiendo una ración integral para cubrir sus necesidades nutricionales de acuerdo a su peso y etapa productiva.

3.2 Recolección y manejo de muestras de ADN

Para la extracción de ADN de cada vaca (n=261) del estudio, se realizó una punción en la vena coccígea usando una jeringa (estéril) de 3 ml por animal. Inmediatamente, tres a cuatro gotas de sangre se distribuyeron uniformemente en tarjetas "Blood-cards™". Las tarjetas se identificaron (fecha/arete/hato) y se conservaron a temperatura ambiente en el Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción del ITSON, para ser posteriormente enviadas al Laboratorio Neogen/GenSeek Inc., USA, donde se procesaron para la extracción y cuantificación de ADN. El ADN resultante de cada una de las vacas muestreadas, así como los derivados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) obtenidos como producto de la re-secuenciación (amplicones) de cada uno de los genes a analizar, fueron utilizados para realizar un estudio de discriminación alélica de los genotipos correspondientes a cada polimorfismo por medio de la plataforma comercial "SequenomMassArray" (Luna *et al.*, 2012).

3.3 Identificación de genes y polimorfismos a identificar

Este proyecto es parte de un estudio mayor en el que se analizaron 13 familias de genes candidatos a ser reguladores de la acción del gen receptor de la prolactina (R-PRL). Dicho estudio comprende un total de 35 genes (funcionales y de transcripción) que presentan variantes génicas o polimorfismos que requieren ser investigados para conocer cómo influyen en el funcionamiento del R-PRL. Los 35 genes participan dentro del eje funcional de la Prolactina y fueron identificados por el Departamento de Bioinformática y Ciencia Animal de la Universidad de California – Davis.

En el caso de esta investigación en particular, se estudiaron los polimorfismos de dos genes en específico: el gen PAP-A2 y polimorfismos con el objetivo de estudiar su asociación con los parámetros de producción de leche en vacas Holstein manejadas durante los meses más cálidos del año en el Sur de Sonora.

3.4 Análisis asociativo

El análisis asociativo entre genotipo y fenotipo para variables productivas de distribución continua fue desarrollado usando el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS (versión 9.2). El modelo estadístico para análisis asociativo se describe a continuación:

$y_{ijklm} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + e_{ijkl}$, donde
y_{ijk}= valor fenotípico del carácter de interés (productivo, fisiológico, etc.)
μ = media poblacional,
A_i= efecto fijo del genotipo,
B_j = efecto fijo de la edad de la madre,
C_k = covariable de días en lactancia,
D_l = efecto aleatorio del semental,
e_{ijkl}= error aleatorio.

Debido a que el término genotipo resultó ser una fuente de variación ($P < 0.05$) en el análisis asociativo, se utilizó la opción PDIFF del procedimiento LSMEANS para generar las comparaciones entre medias para cada genotipo.

3.5 Substitución de alelos

El efecto de la substitución alélica (ej. efecto de substituir un alelo por otro dentro de la población) fue calculado a través de un modelo de regresión (PROC MIXED) incluyendo el término alelo como covariable (Falconer y MacKay, 1996).

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado del estudio las estadísticas descriptivas para los caracteres de producción de leche en vacas Holstein manejadas en el clima cálido del Sur de Sonora se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Valores promedio \pm EE para caracteres relacionados con la producción de leche en vacas de la raza Holstein.

Carácter	N	Media \pm EE
Leche305, kg	253	7235.4 \pm 79.9
Prom305, kg	253	23.7 \pm 0.2
LecheTotal, kg	253	7305.2 \pm 105.1
PromTotal, kg	253	24.1 \pm 0.2
LechePico, kg	253	32.2 \pm 0.3
DíasPico, d	253	75.1 \pm 1.7
DíasAbiertos, d	254	140.9 \pm 5.8
Intervalo, d	254	422.9 \pm 5.8
NumIA	253	1.86 \pm 0.07
Preñez1serv, %	198	61.1 \pm 2.4

Por otra parte, de un total de 5 polimorfismos resultantes de la re-secuenciación de los genes del PAPP-A2, sólo 1 de ellos mostró una Frecuencia del Alelo Menor por arriba del 10 % (FAM>0.10; cuadro 2), lo cual permite evitar resultados falsos en un estudio asociativo entre genotipo y fenotipo, a la vez que la prueba de la chi-cuadrada indicó que la distribución de los genotipos no estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg (P>0.05), hecho que indica que la población ha estado sometida a procesos de selección y/o migración lo cual ha mantenido su heterogenicidad; lo anterior explica porque únicamente esas 4 variantes fueron consideradas para el estudio asociativo entre genotipo y fenotipo.

Cuadro 2. Frecuencia alélicas y genotípicas de los 5 polimorfismos del gen PAPP-A2 (FAM >0.10)

Gen	Polimorfismo	Posición	Frecuencia de alelos		Frecuencias genotípicas		
			A	G	AA	AG	GG
PAPP-A2	PAPPA11335	CROM. 8	37.505	62.505	5.56	63.89	30.56
PAPP-A2	PAPPA129292	CROM. 8	36.105	63.885	11.90	48.41	39.68

Gen	Polimorfismo	Posición	Frecuencia de alelos		Frecuencias genotípicas		
			A	C	AA	CA	CC
PAPP-A2	PAPPA2102149	CROM.8	28.14	71.86	7.29	41.70	51.01
PAPP-A2	PAPPA2110655	CROM. 8	44.40	55.60	0.40	88.00	11.60

Gen	Polimorfismo	Posición	Frecuencia de alelos		Frecuencias genotípicas		
			A	T	AA	AT	TT
PAPP-A2	PAPPA2110622	CROM. 8	38.29	61.71	5.95	64.68	29.37

Los resultados del análisis asociativo se desarrollaron usando el procedimiento MIXED e indicaron que de los 5 polimorfismos analizados (PAPPA11335, PAPPA129292, PAPPA2102149, PAPPA2110622, PAPPA2110655), solamente uno, correspondiente al gen receptor del PAPP-A2, (PAPPA2110622), mostró un efecto significativo ($P < 0.05$; cuadro 3) sobre caracteres donde se disminuye la cantidad de días abiertos, mejoran su intervalo entre partos y se reduce el número de servicios por concepción en vacas Holstein manejadas en el clima cálido del Sur de Sonora. El modelo estadístico incluyó los efectos fijos del genotipo del polimorfismo (AA, TA y TT), para buscar su efecto asociativo con caracteres reproductivos como en producción de leche ajustada a 305 días de lactancia (Leche305), promedio de leche diario ajustado a 305 días de lactancia (Prom305), leche total (LecheTotal), promedio diario de leche total (PromTotal), pico de producción de leche (LechePico), días al pico de producción de leche (DíasPico), total de días abiertos y el intervalo entre partos por animal; resultando ser el genotipo una fuente significativa de variación ($P < 0.01$) sobre las variables productivas antes mencionadas.

El efecto de la substitución alélica (ej. efecto de substituir un alelo por otro dentro de la población; cuadro 4) fué calculado a través de un modelo de regresión (PROC MIXED) incluyendo el término alelo como covariable.

Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos \pm EE para caracteres de producción de leche entre los genotipos de un polimorfismo del gen PAPP-A2

Caracter	Polimorfismo PAPP-A2			Prob
	AA ^c	TA ^d	TT ^c	
Número de animales	17	135	302	
Leche305	6882.88 \pm 392.96 ^a	7357.12 \pm 186.77 ^a	7423.12 \pm 142.40	0.3951
Prom305	22.56 \pm 1.2883	24.1217 \pm 0.6123	24.3383 \pm 0.4668	0.3952
LecheTotal	7043.82 \pm 382.94	7402.56 \pm 180.19 ^b	7448.46 \pm 136.07	0.5794
PromTotal	23.6313 \pm 1.2889 ^a	24.5369 \pm 0.6160	24.7838 \pm 0.4721	0.6559
LechePico	79.3624 \pm 8.7616 ^a	75.8521 \pm 3.7276 ^a	72.4758 \pm 2.5254	0.6082
DíasPico	33.7323 \pm 1.6436	32.6392 \pm 0.07577	32.8022 \pm 0.5605	0.8094
DíasAbiertos	151.64 \pm 27.3724 ^a	160.15 \pm 11.6045 ^a	119.96 \pm 7.8330 ^b	0.0144
Intervalo	133.64 \pm 27.3724 ^a	442.15 \pm 11.6045 ^a	401.96 \pm 7.8330 ^b	0.0144
NumIA	1.2779 \pm 0.2719 ^a	2.0091 \pm 0.1150 ^a	1.6370 \pm 0.07742 ^b	0.0082

a, b Dentro de líneas, medias sin literales idénticas indican diferencia (P < 0.05)

^cGenotipos homocigotos.

^dGenotipo heterocigoto.

Posteriormente se utilizó la opción PDIFF del procedimiento LSMEANS para generar las comparaciones entre medias para cada genotipo. En el cuadro 3 se describen las medias de cuadrados mínimos \pm EE para caracteres de producción de leche entre los genotipos del polimorfismo del gen PAPP-A2 (PAPP-A2110622), donde el alelo T resultó ser el alelo favorable ($P < 0.05$). Cuando está presente en el genotipo, el alelo T los días abiertos se reducen 28.152, el intervalo entre partos ocurre 28.152 antes y los servicios por concepción disminuyen en 0.1010.

Cuadro 4. Efectos de substitución alélica paralelos genotipos favorables del polimorfismo del gen PAPP-A2110655

Caracter	Efectos de substitución alélica		
	<i>Prob</i> ^a	Valor estimado ^b	EE
Días abiertos	0.00144	28.152	10.6833
Intervalo entre partos	0.0014	28.152	10.6833
Servicios por concepción	0.0082	0.1010	0.1082

^aValores de P obtenidos del análisis de substitución alélica en SAS incluyendo el término genotipo como covariable.

^bEfectos estimados expresados en unidades de las características.

Se ha encontrado evidencia significativa en el gen de la Proteína Plasmática A, Asociada a la Preñez (PAPP-A2) con la regulación de la reproducción en los seres humanos y ratones además de en el ganado, donde su papel es factor de crecimiento y regula el metabolismo de la insulina, este gen fue elegido como candidato para llevar a cabo un estudio de asociación para la salud reproductiva del ganado Holstein. Los SNP identificados se pueden utilizar como marcadores genéticos debido a su asociación positiva con los rasgos reproductivos y productivos (Rincon y Wickramasinghe *et al.*, 2011). Este marcador regula la disponibilidad de IGF, (Daetwyler *et al.*, 2008) y es responsable de la proteólisis de IGFBP - 5, que puede estar jugando un papel en la inhibición de la acción de la proteína de unión durante el desarrollo y la proliferación de las células epiteliales de la glándula mamaria, por lo tanto el aumento de la disponibilidad de IGF - I y II , es esencial para la mitosis de las células epiteliales mamarias . Esto podría explicar la asociación del gen de la PAPP - A2 con la producción de leche. Se ha identificado que el IGF- 1 estimula la síntesis de proteínas en las células epiteliales de la glándula mamarias de los bovinos, Por lo tanto, el aumento en la disponibilidad de IGF - 1 por PAPP - A2 puede mejorar la síntesis de proteínas en la glándula mamaria.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, de los polimorfismos analizados para el gen de la PAPP-A2, solo uno resultó tener un efecto estadísticamente significativo sobre caracteres de Días abiertos, Intervalo entre partos y Servicios por concepción (PAPP-A2110655) , este resultado coincide con lo expuesto por Rincón y Wickramasinghe, *et al.*, 2011, quienes explican en su estudio que este polimorfismo influye sobre la tendencia genética para caracteres relacionados con la reproducción, destaca como un gen candidato para la facilidad de parto. Además, en las poblaciones Holstein, alta incidencia de distocia reduce la rentabilidad, el rendimiento reproductivo y la producción de leche (Berger y Dematawewa, 1998). Sin embargo Daetwyler *et al.*, 2008, mencionan que es

responsable de la proteólisis de IGFBP - 5, esencial para la mitosis de las células epiteliales mamarias, asociándolo con producción de leche.

Dentro del contexto discutido anteriormente para el gen STAT2 en este estudio, se necesita investigación adicional para delinear las mutaciones causales y desequilibrio de ligamiento con otros polimorfismos en el gen de la PAPP - A2 en el ganado vacuno. No existe ningún estudio publicado sobre la importancia del gen PAPP -A2 en lactogénesis, sin embargo, se sabe que la IGFBP - 5 producida a partir de la glándula mamaria durante la fase de involución promueve la apoptosis mediante la captura y el IGF secuestrante estimula la proliferación de células epiteliales mamarias y la supervivencia de estas (Allan *et al.*, 2000).

V. CONCLUSIONES

Existe una relación entre variantes del gen de la proteína plasmática-A2 asociada a la preñez (PAPP-A2) que le brinda la capacidad de expresar y heredar la sostenibilidad de la producción de leche en el ganado Holstein bajo condiciones de estrés calórico.

En este estudio el gen PAPP-A2 mostró un efecto estadístico significativo ($P < 0.05$) sobre caracteres de reproductivos en el ganado manejado bajo clima cálido del Sur de Sonora. Además, se identificó al alelo T como el alelo favorable, el cual cuando está presente en el genotipo, disminuye en forma significativa la cantidad de días abiertos, del intervalo entre partos y reduce el número de servicios por concepción, favoreciendo de inmediato a la preñez, misma que conlleva a la producción constante de leche a pesar de las condiciones climáticas.

Incrementando de esta manera la economía del productor, ya que se reducen para él los gastos de alimentar a un animal vacío por 28.152 día

Es conveniente que este gen sea considerado dentro de un programa de selección asistida por marcadores moleculares, con la finalidad conocer la relación existente en un hato en particular, para así llevar a cabo una selección donde se permita aumentar la frecuencia del alelo favorable de dicho gen y así mejorar genéticamente la habilidad reproductiva del ganado Holstein. Este estudio permite a los productores conocer la interacción favorable de este gen con la productividad, la cual debido a las condiciones climáticas que prevalecen durante el verano, no arrojan resultados favorables siendo afectados por el estrés calórico. Es recomendable que la realización de este tipo de estudios moleculares, sea constante para que identifique al ganado con las mejores características genéticas para que le lleve a tener un mejor desempeño en esta región.

VI.- LITERATURA CITADA

Allan, G. J., Flint, D. J., Darling SM, Geh J & Patel K 2000 Altered expression of insulin-like growth factor-1 and insulin like growth factor binding proteins-2 and 5 in the mouse mutant Hypodactyly (Hd) correlates with sites of apoptotic activity. *Anatomy and Embryology* 202 1-11, Page 19 of 34

Arias, T., Mader, P., *et al.* 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche

Ariasa, R. A., Mader, T. L., Escobara, P. C., 2008. Climatic factors affecting cattle performance in dairy and beef farms. Department of Animal Science, University of Nebraska-Lincoln, USA. *Arch Med Vet* 40, 7-22

Bale, L., Conover, C. A. 2005. Disruption of insulin-like growth factor-II imprinting during embryonic development rescues the dwarf phenotype of mice null for pregnancy-associated plasma protein-A. *J. Endocrinol.* 186, 325–331. CrossRef, PubMed, CAS, Web of Science®

Berman, A. 2005. Estimates of heat stress relief needs for holstein dairy cows. *J. Anim. Sci. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* ISSN 1695-7504 <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Vol. 83. P. 1377-1384

Blackshaw, J., Blackshaw, A. W., 1994. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: a review. *Aust J Exp Agric* 34, 285-295.

- Boldt, H. B., Conover, C. A. 2007. Pregnancy-associated plasma protein (PAPP-A): a local regulator of IGF bioavailability through cleavage of IGFbps. *Growth Horm. IGF Res.* 17, 10–18
- Bodisco, V., Manrique, U., Valle, A., Cevallos, E., 1973. Tolerancia al calor y humedad atmosférica de vacas holstein, pardo suizas y guernsey. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Maracay, Venezuela. *Agronomía Tropical* 23(3): 241-261.
- Collier, R. J., Collier, J. L., Rhoads, R. P. & Baumgard, L. H. 2008. Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. *J. Dairy Sci.* 91:445-454.
- Correa, C. A., Avendaño, R. L., Aurelio Rubio, V.A., Armstrong, V. D., Smith, J. F., y DeNise, S. K., 2002. Effect of a cooling system on productivity of holstein cows under heat stress. Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Baja California. Ejido Nuevo León, Baja California 21705.
- Daetwyler, H.D., Schenkel, F.S., Sargolzaei M., Robinson, J.A. 2008. A genome scan to detect quantitative trait loci for economically important traits in Holstein cattle using two methods and a dense single nucleotide polymorphism map. *J. Dairy Sci.* 91:3225–3236.
- Davis, M. S.; Mader, T. L.; Holt, S. M.; Parkhurst, A. M. 2003. Strategies to reduce feedlot cattle heat stress: Effects on tympanic temperature. *J Anim Sci* 81, 649-661.

Da Silva RG. 2006. Weather and climate and animal production. In: Update of the guide to agricultural meteorological practices.WMO-No.134 published in 1982.

Dematawewa, C. M.; Berger, P. J. 1998. Genetic and phenotypic parameters for 305-day yield, fertility, and survival in holsteins. (en línea). Journal of Dairy Science. 81(10):2700-27

Dikmen, S., E. Alava, E., Pontes, E., J.M. Fear, J.M., Dikmen B.Y., Olson, T.A., Hansen, P.J., 2008. Differences in Thermoregulatory Ability Between Slick-Haired and Wild-Type Lactating Holstein Cows in Response to Acute Heat Stress. Journal of Dairy Science Volume 91, Issue 9, Pages 3395–3402

Dikmen, S., Martins, E., *et al.* 2009. Genotype effects on body temperature in dairy cows under grazing conditions in a hot climate including evidence for heterosis. Int. J. Biometeorol. 53: 327-331

Do Amaral, B.C., *et al.* 2009. Heat-stress abatement during the dry period: Does cooling improve transition into lactation? * Department of Animal Sciences, University of Florida, Gainesville 3261 † Bovine Functional Genomics Laboratory, USDA-ARS, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, MD 20705

Falconer, D.S. y Mackay, T.F. 1996. Loci de caracteres cuantitativos. p.363-384. EN: Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. Genética cuantitativa. Cuarta edición. ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España.

Gaughan, J.B., Mader, T.L., Holt, S.M., Lisle.,A., 2007. A new heat load index for feedlot cattle. J Anim Sci 2007, jas.2007-0305v1.

Góngora, A., Aureliano Hernández, A., 2010. High environmental temperatures affect reproduction in the cow. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica Print version ISSN 0123-4226. rev.udcaactual.divulg.cient. vol.13 no.2 Bogotá

Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. J. Anim. Sci. Vol. 77, Suppl. 2/J. Dairy Sci. Vol. 82, Suppl. 2/1999.

Homan, E. J.; Wattiaux, M.A. 1996. Guía técnica lechera: lactancia y ordeño. Instituto Babcock. Universidad de Wisconsin-Madison. USA. 101 p.

Jahn, E., Arredondo, S., Bonilla, W., Del Pozo, A., 2002. Efecto de la temperatura y la suplementación energética sobre la producción de leche en vacas lecheras a pastoreo. Agric Tec 62, 245-254.

Khalifa H.H. 2003. Bioclimatology and adaptation of farm animals in a changing climate. Interactions between climate and animal production. (7):15-29. Procedure Symp, EAAP Technical series.

Leyva, J., Félix, P., *et al.* 2007. Tendencias a las condiciones climáticas de la zona agrícola y pecuaria del sur de Sonora. En la XVII Reunión Internacional sobre producción carne y leche en climas cálidos 18 y 19 octubre. Mexicali BC, México. Pp 219-295.

Leyva C.J.C., Félix V.P., Osuna A.J.D., Ávalos C.R., Correa C.A., Luna N.P., Munguía X.J.A., Morales M.I.P. y Hernández H.I.R. 2009. Desempeño productivo del ganado lechero controlando la ventilación y aspersion de agua bajo las condiciones semi-húmedas de verano del sur de Sonora. En la XIX Reunión Internacional sobre producción de carne y leche en climas cálidos. Universidad Autónoma de B.C., México. Pp. 179-184

Leyva, J., Zamorano, R., *et al.* 2012. Incrementar la frecuencia de baños mitiga el estrés calórico en el ganado Holstein en un clima semi-húmedo. En la XXII Reunión Internacional de Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos, dentro de la 2da Reunión Internacional Conjunta de Manejo de Pastizales y Producción Animal. Zacatecas Za., México.

Luna, N.P., Rincón, G., Medrano, J.F., Riley, D.G., Chase, C.C., Coleman, S.W., DeAtleye, K.L., Islas, A.T., Silvere, G.A., Thomase M.G., 2012. Identification of one polymorphism from the PAPP-A2 gene associated to fertility in Romosinuano beef heifers raised under a subtropical environment. *Rev Mex Cienc Pecu*; 3(2):185-200

Martínez, M. A., 2006. Efectos climáticos sobre la producción del vacuno lechero: estrés por calor. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* ®, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 10, *Veterinaria.org* ®

Morales, C. A., Rodríguez, N. V., 2005. Hormonas tiroideas en la reproducción y en la producción láctea del ganado lechero. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Mujika, I., 2005. El estrés calórico, efecto en las vacas lecheras. Navarra Agraria: Área de asistencia técnica en vacuno lechero TGG. Pág.: 36-44.

Pearson, T. A, Manolio, T. A. How to interpret a genome-wide association study. J Am Med Assoc 2008;299:1335-1344.

Renaudeau, D., 2005. Effects of short-term exposure to high ambient temperature and relative humidity on thermoregulatory responses of European (Large White) and Caribbean (Creole) restrictively-fed growing pigs. Anim Res 54, 81-93.

Roca, C. A., 2011. Efecto del estrés calórico en el bienestar animal, una revisión en tiempo de cambio climático. Vol. VII, Nº 10, Octubre/2006 – <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html>

Schneider, P. L., Beede, D. K., Wilcox, C. J., y Collier, R. J., 1984. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat stressed lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 67:2546-2553.

Silanikove, N., 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest Prod Sci* 67, 1-18.

VanRaden, P. M., Van Tassell, G. R. Wiggans, T. S. Sonstegard, R. D. Schnabel, J. F. Taylor, and Schenkel, F., 2009. Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 92:16-24.

Wang, J., Qiu, Q., Haider, M., Bell, M., Gruslin, A., y Christians, J. K. 2009. Expression of pregnancy-associated plasma protein A2 during pregnancy in human and mouse.

West, J., 1992. Estrés calórico: alimentación y manejo para reducir sus efectos en las vacas holando. *Nuestro Holando*, Bs.As., N° 388. Pág.: 1-2.

West, J. W. 2003. Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 86:2131-2144

Wickramasinghe, S., Rincon, G., Medrano, J.F, 2011. Variants in the pregnancy-associated plasma protein-A2 gene on *Bos taurus* autosome 16 are associated with daughter calving ease and productive life in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. Volume 94, Issue 3, Pages 1552–1558