

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

---

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS



**GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A DÍAS ABIERTOS EN VACAS  
HOLSTEIN BAJO UN CLIMA SEMIÁRIDO: ESTIMACIÓN DEL  
VALOR GENÉTICO MOLECULAR**

**TESIS**

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

**PRESENTA:**

RICARDO ZAMORANO ALGANDAR

**DIRECTOR DE TESIS:**

Dr. ABELARDO CORREA CALDERÓN

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA

ENERO DE 2016

La presente tesis titulada “GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A DÍAS ABIERTOS EN VACAS HOLSTEIN BAJO UN CLIMA SEMIÁRIDO: ESTIMACIÓN DEL VALOR GENÉTICO MOLECULAR”, realizada por el C. **RICARDO ZAMORANO ALGANDAR** fue dirigida por el Dr. Abelardo Correa Calderón siendo aceptada, revisada y aprobada por el Consejo Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL**

CONSEJO PARTICULAR

---

Dr. Abelardo Correa Calderón  
**DIRECTOR**

---

Dr. Pablo Luna Nevárez  
**CO-DIRECTOR**

---

Dr. Leonel Avendaño Reyes  
**SINODAL**

---

Dr. Ulises Macías Cruz  
**SINODAL**

**“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE”**

Mexicali, Baja California, Enero de 2016

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a DIOS por cuidar a mi gran familia, incluyendo a mis nuevas familias: Fam. Sánchez Castro y Fam. Castell islas.

Agradezco de todo corazón al Doctor Abelardo Correa Calderón por aceptar el reto de ser mi asesor. En verdad siempre le pediré a DIOS que lo cuide y lo proteja. GRACIAS.

Un especial agradecimiento al Dr. Leonel Avendaño Reyes y al Dr. Ulises Macías Cruz, por ser parte de mi comité evaluador pero sobre todo por sus aportaciones en el trabajo de tesis. De igual forma agradezco a los Ph.D. Milton G. Thomas, Ph.D. Mark Enns, Ph.D. Scott Speidel por el apoyo brindado a un servidor.

Doctora Noemí Torrentera quiero que sepa que una de las cosas más bonitas que me paso durante estos dos años de maestría fue conocerla a usted. En verdad quiero decirle que la quiero mucho, gracias por su gran amistad.

Jacqueline como a su hijo Ian, quiero decir que los extrañare mucho, en verdad quiero que sepan que le agradezco a DIOS por ponerlos en mi camino. Sin duda alguna los llevare en mi corazón, nunca los voy a olvidar. Gracias por toda la alegría que me hicieron sentir.

Agradezco al Dr. José Clemente Leyva por el apoyo brindado en mi proyecto de tesis, pero sobre todo gracias por su bonita amistad.

También le agradezco a mis amigos de la maestría: Ricardo Vicente, Ángel Mejía, Yolanda Osorio, Fabiola Guevara y Sandra Rojas. Quiero que sepan que siempre los recordaré. Finalmente gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al “Programa UCMEXUS-CONACYT, Convocatoria 2010”, por el apoyo económico brindado durante mi maestría así como por el financiamiento del proyecto de investigación, sin dichos apoyos, la realización de este trabajo hubiera sido imposible.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dirigido al cielo con especial dedicatoria a mi MAMÁ. Sé que desde el cielo estas guiándome por el camino correcto, en verdad espero que te sientas orgullosa de mí. Hoy le quiero pedir un favor, me gustaría que mi tía Elizabeth (Betty) sepa que su ausencia nos causó un gran dolor en nuestro corazón, sin embargo, quiero decirle que sin duda alguna fue la mejor tía que pude haber tenido, la “mejor”. Las extraño y las amo mucho.

A mis hermanos o mejor dicho, a mis ángeles protectores Héctor, Juan, Manuel, Omar, Laura y Rosario, no está de más decir que los AMO con todo mi corazón, en verdad quiero que sepan que me siento muy orgulloso de que ustedes sean mi hermanos.

Yo creo que cuando un alumno tiene aspiraciones de superación es porque a tras de ese alumno hay un gran maestro que lo motiva a ser mejor. Sin duda alguna usted Dr. Pablo Luna es ese maestro que DIOS me mando para que me guiara por el camino de la superación, el camino para ser uno de los mejores en la Ciencia Animal. Usted se lleva todo el crédito en este trabajo, es por eso, que de todo corazón se lo dedico a usted. Gracias por ser mi maestro.

A cada integrante del Equipo del laboratorio de Biotecnología de la reproducción le dedico este trabajo en especial a la médica Mara Barojas y al maestro Florentino Torres, gracias por su bonita amistad. Una especial dedicatoria directamente al cielo para Abi Castro y su amiga Karla Swain, sin duda su partida inesperada dejo un gran dolor en el corazón de todos los integrantes del laboratorio de Biotecnología de la reproducción. Hasta pronto.

La vida se vuelve más fácil cuando tus amigos se convierten en hermanos, hoy quiero agradecerles a esos hermanos que la vida me fue dando a través del tiempo, quiero que sepan que siempre los llevo en mis pensamientos, los quiero mucho: Kilo, Tomy, Toyo, Juanito, Edgar Yocupicio, Miguel Sánchez y Eduardo Aragón.

# ÍNDICE

<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	vi
<b>LISTA DE GRÁFICAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>RESUMEN</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
2.1    Días abiertos .....	3
2.2    Selección genética.....	4
2.3    Modelo genético para rasgos cuantitativos .....	5
2.4    Heredabilidad para días abiertos.....	7
2.5    Factores que influyen negativamente en el potencial genético reproductivo .....	8
2.5.1    Enfermedades .....	9
2.5.2    Nutrición.....	10
2.5.3    Estrés calórico.....	11
2.6    Estrategias para maximizar la reproducción animal bajo un clima cálido.....	12
2.7    Estudio del genoma completo.....	14
2.8    Tipos de marcadores moleculares.....	16
2.8.1    Microsatélites .....	17
2.8.3    Polimorfismo de nucleótido simple.....	17
2.9    Selección genómica (GS).....	18
2.10    Selección asistida por marcadores moleculares .....	19
2.10.1    Valor genético molecular .....	20
2.11    Genes relacionados con la reproducción del ganado lechero .....	21
2.11.1    Gen de la hormona de crecimiento.....	21
2.11.2    Gen proteína de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina .....	22
2.11.3    Gen de la proteína plasmática A asociada con la gestación .....	23

2.11.4	Gen transductor de señal y activador de la transcripción .....	24
2.11.5	Otros genes relacionados con la reproducción .....	24
<b>3.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
3.1	Sitio de estudio y población experimental .....	26
3.2	Datos reproductivos.....	26
3.2.1	Manejo del ganado .....	27
3.2.2	Determinación de enfermedades .....	28
3.3	Índice de Temperatura-Humedad .....	28
3.4	Recolección de muestras sanguíneas y genotipificación .....	29
3.5	Calidad de datos y genotipos .....	31
3.6	Cálculo del valor de cría molecular .....	31
3.6	Análisis estadístico .....	32
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>38</b>
4.1	Descripción poblacional .....	38
4.2	Descripción climática .....	39
4.3	Identificación de SNP relacionados con DA .....	42
4.4	Determinación de genotipos favorables para los SNP asociados a DA.....	45
4.5	Efecto de los SNP .....	49
4.6	Modelos y correlación .....	50
4.5	Parámetros de heredabilidad.....	53
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>55</b>
	<b>ANEXO</b> .....	<b>56</b>
	<b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>61</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1</b>	Registros reproductivos de acuerdo a la fecha y número de vacas.....	27
<b>Cuadro 2</b>	Panel de los 179 SNP relacionados al eje funcional de PRL y de GH-IGF1...	29
<b>Cuadro 3</b>	Resumen estadístico relacionado con eficiencia reproductiva de la población.....	38
<b>Cuadro 4</b>	Total de SNP relacionados con la variable reproductiva días abiertos de vacas Holstein bajo un clima semiárido.....	42
<b>Cuadro 5</b>	Comparación de medias para los genotipos de los SNP asociados a DA.....	46
<b>Cuadro 6</b>	Análisis de sustitución alélica para el genotipo favorable de los 6 genes polimórficos relacionados con DA.....	49
<b>Cuadro 7</b>	Descripción de media aritmética para el MBV.....	50
<b>Cuadro 8</b>	Correlación entre DA con MBV y otras variables relacionadas con el rendimiento reproductivo de vacas Holstein manejadas bajo el clima cálido del sur de Sonora, México.....	51
<b>Cuadro 9</b>	Heredabilidad de DA en vacas Holstein del sur de Sonora.....	54
<b>Cuadro 10</b>	Frecuencias alélicas y genotípicas para los 179 genes en estudio.....	56

## LISTA DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1</b>	Promedios de ITH durante la temporada de partos 2011 y 2012.....	40
<b>Gráfica 2</b>	Promedios de variables climáticas durante la gestación 2011, 2012 y 2013.....	40
<b>Gráfica 3</b>	Relación de la frecuencia del genotipo del SNP con número de vacas.....	47
<b>Gráfica 4</b>	Porcentaje de vacas con el genotipo favorable, heterocigoto y genotipo no favorable para los seis SNP.....	48
<b>Gráfica 5</b>	Gráfico de dispersión entre DA y MBV.....	51

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Representación esquemática de la estructura de un gen.....	15
<b>Figura 2</b>	Representación esquemática de QTL reportados para rasgos de fertilidad del ganado vacuno.....	16
<b>Figura 3</b>	Representación esquemática de un polimorfismo de nucleótido simple.....	18

## RESUMEN

Los caracteres reproductivos de mayor importancia para los sistemas de producción animal están limitados por el método de selección animal y por el clima, sin embargo, se considera que con la aplicación de marcadores moleculares es factible desarrollar modelos estadísticos útiles para la selección genética. El objetivo del presente estudio fue estimar el valor genético molecular (MBV) de días abiertos (DA) a partir de marcadores moleculares asociados al comportamiento reproductivo del ganado Holstein. La población fue conformada por 510 vacas pertenecientes a tres distintos hatos. La variable fue DA fluctuó de 25 a 198 d. Para la genotipificación del ganado se utilizó un panel de 179 polimorfismos de nucleótido simple (SNP). Las muestras sanguíneas de las 510 vacas fueron recolectadas en tarjetas FTA-Cards™ para su posterior genotipificación. El MBV se calculó sumando el efecto aditivo de los SNP significativos ( $P < 0.05$ ) para DA. El trabajo consistió en cinco modelos. El primer modelo incluyó el genotipo de los SNP y sus efectos. El segundo fue un modelo reducido que incluyó DA y MBV, mientras que el tercer modelo completo incluyó las variables número de lactancia, hato, estatus de enfermedad, días en lactancia y MBV. El cuarto modelo consistió en calcular la heredabilidad en sentido amplio y el quinto modelo heredabilidad en sentido estricto. En el primer modelo, los genes GHR, IGFBP2, PAPP1, SSTR2, SSTR3 y STAT5A mostraron un valor menor para DA ( $P < 0.05$ ). La  $R^2$  fue 2.5% para el modelo reducido y 63% para el completo. La heredabilidad en sentido amplio y estricto fue idéntica 0.16%. En base a lo anterior, se concluye que el MBV por si solo explicó muy poca variación genética de DA, pero cuando se incluyen variables medioambientales al modelo la  $R^2$  aumentó. Por lo tanto, en futuras investigaciones se deben incluir más SNP para explicar DA con mayor precisión, puesto que tampoco hubo cambios en la heredabilidad.

**Palabras clave:** Valor genético, MBV, Estrés por calor, Holstein, Días abiertos, SNP.

## ABSTRACT

The most important reproductive traits for the animal production systems are limited by the method of animal selection and the weather, however, the application of molecular markers allows to develop useful statistical models for genetic selection. The objective of this study was to estimate the molecular breeding value (MBV) of days open (DO) based on molecular markers associated to reproductive records of Holstein dairy cattle. The population included 510 cows from three different dairy herds. The variable DO ranged from 25 to 198 d. The genotyping process included a panel of 179 single nucleotide polymorphisms (SNP). Blood samples from 510 cows were collected on FTA-Cards™ for using in the genotyping process. The MBV was calculated by adding the additive effect of each significant SNP ( $P < 0.05$ ) for DO. Five statistical models were used in the study: the first model included the SNP genotype and their effect; the second model was a reduced model which included the MBV and DO; the third model was a complete model which included the variables lactation number, dairy farm, health status, days in milk and MBV. The fourth and the fifth model were used to calculate the heritability in a broad and narrow sense, respectively. In the first model, the genes GHR, IGFBP2, PAPP1, SSTR2, SSTR3 y STAT5A showed a lower value for DO ( $P < 0.05$ ). The  $R^2$  was 2.5% and 63% for the reduced model and the complete model, respectively. The heritability in a broad and narrow sense was 0.16%. Based on this results, we concluded that the MBV by itself only explained very little of the genetic variation, but when environmental variables were included in the statistical model the  $R^2$  increased. Further research should include more SNP's in order to explain more precisely the genetic variation of DO, as the heritability was the same for both models.

**Key words:** Breeding value, MBV, Heat stress, Holstein, Days open, SNP.

# 1. INTRODUCCIÓN

En Sonora y en todo México, la producción de leche del ganado Holstein es una actividad pecuaria de suma importancia debido a que genera un alimento básico para el hogar y un sustento económico para varios productores. El proceso para que una vaca produzca leche no es nada sencillo porque intervienen distintos elementos, siendo lo principal el inicio de la actividad reproductiva, ya que la lactancia es iniciada por una gestación y es renovada en cada parto (VanRaden *et al.*, 2004). Por lo tanto, la reproducción es muy importante, sin embargo, el progreso genético reproductivo es altamente influenciado por el medio ambiente, por lo que surge la necesidad de generar información nueva acerca de los parámetros reproductivos más relevantes que permiten medir la eficiencia reproductiva de la vaca.

Días abiertos (DA) es un parámetro que provee información de lo que ocurre entre un parto y una nueva gestación (VanRaden *et al.*, 2004; Pszczola *et al.*, 2009). Entre menor DA mayor eficiencia reproductiva del hato. Sin embargo, la evaluación de cualquier rasgo reproductivo es difícil y DA es una variable que presenta una serie de limitaciones que intervienen en la selección genética, ya sea visualmente o por pedigrí.

El gran inconveniente de la selección visual es que no asegura si el individuo es portador de genes determinantes para la reproducción (VanRaden *et al.*, 2004). Por otra parte, el éxito de la selección mediante el valor genético estimado (EBV) es debido a que la selección de crías es basada en el pedigrí, lo que conlleva estimar el potencial predicho desde el nacimiento de la cría, (Dekkers, 2012). Sin embargo, el EBV de DA es limitada por distintos eventos como: la posibilidad de grabar rutinariamente el fenotipo, reducida heredabilidad y el clima, siendo este último el de mayor variación (Hansen, 2000; Renaudeau *et al.*, 2012; Pritchard *et al.*, 2013). Por otra parte, la identificación de vacas con alto merito

genético para DA se vuelven aún más difícil por el hecho que los caracteres reproductivos son controlados por varios genes.

Actualmente, estudios de asociación de genoma completo (GWAS) ha permitido identificar polimorfismo de nucleótido simple (SNP) relacionados con locus de rasgos cuantitativos (QTL) que explican una proporción de variación en producción de leche y fertilidad (Pryce *et al.*, 2010). Entonces un SNP es una variación en la secuencia de ADN, es decir, es la sustitución de un nucleótido por otro. Distintos SNP's tanto en ganado de carne como de leche han sido identificados y propuestos como candidatos para ser tomados en cuenta en evaluaciones genéticas reproductivas (Luna- Nevárez *et al.*, 2012; Cochran *et al.*, 2013).

La selección asistida por marcadores (MAS) mediante SNP's candidatos es una nueva y poderosa herramienta para el mejoramiento genético (Dekkers, 2010). Un enfoque de la MAS es la aplicación de conocimientos acerca de la asociación entre SNP's y fenotipos en búsqueda de soluciones estadísticas referente a la estimación del EBV en vacas productoras de leche. La estimación del EBV molecular se obtiene sumando los valores de todos los fragmentos de un cromosoma ya sea por genotipos de SNP's o haplotipos heredados dentro de los cromosomas (Garrick, 2011). Esta estimación se conoce como valor genético molecular (MBV) (Raadsma *et al.*, 2007). Se piensa que el MBV mediante la MAS permitirá desarrollar modelos estadísticos útiles para la evaluación genética a partir del descubrimiento de genes relacionados con DA del ganado Holstein bajo condiciones climáticas de la región. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue estimar el MBV de días abiertos a partir de marcadores moleculares asociados al comportamiento reproductivo del Holstein.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Días abiertos

El éxito de un establo lechero se basa en estrictas evaluaciones genéticas para características de interés en el ganado bovino lechero, comenzando con mediciones directas de su producción de leche. Para que la red de hormonas que participan en la producción láctea se active, primeramente la vaca debe entrar en pubertad y presentar un parto, recordando que una lactancia inicia y se renueva con un parto. Por lo tanto, el óptimo comportamiento reproductivo de una vaca Holstein es requisito indispensable para el éxito económico del establo (Kuhn *et al.*, 2004; González-Recio y Alenda, 2005; Caraviello *et al.*, 2006).

El calendario reproductivo de un establo lechero es diseñado en base al número de días en los cuales una vaca produce leche. El número de días esperados de producción de leche para una vaca es de 305 d dejando 60 d de secado (recuperación), incluso de 46 d puede ser un periodo óptimo (Do Amaral *et al.*, 2009). Una vez que transcurren ~ 284 d del parto, se busca que la concepción ocurra antes de 81 días después del parto para cumplir con un intervalo entre partos (IEP) de 365 días. Sin embargo, lo comentado anteriormente no todos los establos lo cumplen, por momentos la regularidad de partos se vuelve imposible debido a factores como: inseminación artificial, época de parto, manejo del establo lechero, nivel de producción, paridad y genética de la vaca (Oseni *et al.*, 2003; Pinedo y De Vries, 2010).

Por lo tanto, se han propuesto diferentes tipos de parámetros para medir la eficiencia reproductiva del ganado bovino entre los que se encuentran días abiertos (DA) (VanRaden *et al.*, 2004). El tiempo que transcurre entre el parto y el momento en que la vaca vuelve a quedar gestante es conocido como DA (VanRaden *et al.*, 2004; Pszczola *et al.*, 2009). Los DA

para su estudio puede variar entre 50 y 300 d y este rango está en función a la edad al parto, servicios por concepción, intervalo entre servicios, zona geográfica, genética, etc. (Kuhn *et al.*, 2004; Oseni *et al.*, 2004).

El estudio de DA facilita o proporciona una idea de la época en la que el parto sucederá. Por lo tanto, el manejo reproductivo en hatos lecheros es de suma importancia para mantener un reducido rango de DA, ya que entre menos días dure la vaca en quedar gestante tendrá mayor producción de leche. De ahí surge la importancia de determinar DA y otros parámetros que permitan señalar y predecir la eficiencia reproductiva y determinar los causales de la infertilidad individual como colectiva en el rebaño. Entonces DA tiene gran influencia en la programación de partos durante todo el año y esto se debe a que el IEP depende de DA (Kuhn *et al.*, 2004). Por lo tanto, el conocimiento de DA brindará información del comportamiento reproductivo del hato.

## **2.2 Selección genética**

Actualmente aún existen establos lecheros en Sonora y en algunas partes de México donde su selección genética se basa en el fenotipo y pocas mediciones de variables. Optar por este tipo de selección es un camino de mejoramiento genético totalmente equivocado debido a que los animales no reflejan en ninguna parte de su exterior si es portador o no de genes que eleven el rendimiento reproductivo. En este sentido, se requieren de medidas de algunas características (fenotipos) que puedan resultar en un buen reflejo de la presencia o ausencia de esos genes que interesan (Thomasen *et al.*, 2013).

La selección genética implica criterios de mejoramiento genético en favor del fenotipo deseable para la explotación. Dekkers (2012) menciona que el mejoramiento genético en las poblaciones animales se centra principalmente en producir crías que se desarrollen

productivamente y reproductivamente mejor en relación al promedio de la generación actual del establo. Así, actualmente una extensa cantidad de datos referentes a la eficiencia reproductiva y productiva del ganado, como pruebas de progenie y de pedigrí, son importantes para realizar estudios de selección (Kuhn *et al.*, 2004; Sørensen *et al.*, 2008).

A la fecha, un problema grande que se presenta en establos lecheros del sur de Sonora, incluso de todo México, es la falta de registros confiables con los cuales se puedan realizar correlaciones genéticas en caracteres de interés. Otro punto importante es que desafortunadamente existen rasgos de interés que solamente presentan un solo registro (ej. longevidad), rasgos que están ligados al sexo (ej. producción de leche) o rasgos que para ser medidos tiene que ser sacrificado el animal (ej. calidad de la carne). Estos ejemplos de restricciones limitan el estudio del fenotipo y el progreso genético (Dekkers, 2012).

Con el fin de superar estas limitaciones se deben de buscar nuevas alternativas para obtener mediciones tempranas, incluso desde el nacimiento, a aquellos animales candidatos para la selección. Umesh *et al.* (2014) indicaron que el mejoramiento genético del ganado de la India ha dependido de la selección de la cría en base a su fenotipo, sin embargo, mencionan que la identificación de genes importantes a través de tecnologías moleculares puede equilibrar el proceso de selección y por lo tanto optimizar el programa de selección animal. Por lo tanto el uso de tecnologías moleculares para la identificación de genes que potencializan la reproducción y producción animal es un camino factible para el mejoramiento genético de un hato lechero.

### **2.3 Modelo genético para rasgos cuantitativos**

La predicción de los valores genéticos constituye una parte integral de la mayoría de los programas de cría para el mejoramiento genético (Mrode, 2005). El valor fenotípico es un

registro del desempeño individual de un animal para un rasgo en particular. En cambio, el valor genotípico se refiere al efecto de los genes de forma individual para un rasgo en particular. Cada observación fenotípica en un animal está determinada por factores genéticos y medioambientales (permanentes o temporales) y éste puede ser definido por el siguiente modelo (Van Vleck *et al.*, 1987; Bourdon, 2000):

**Observación fenotípica**= *Efecto del medio ambiente + efecto genético + efecto residual*

El modelo básico también se puede describir como:

$$P = \mu + G + E$$

Dónde:  $P$ = es el valor del fenotipo o rendimiento individual de un animal para un rasgo;  $\mu$ = media de la población o valor promedio del fenotipo de todos los animales en la población;  $G$ = valor genético individual para un rasgo y  $E$ = el efecto medioambiental en el rendimiento individual de un animal para un rasgo (Bourdon, 2000; Mrode, 2005).

El valor genético (BV) es el valor de un padre para contribuir de forma independiente al valor de los genes a la siguiente generación. Cada padre contribuye con la mitad de sus genes a su progenie (Mrode, 2005). El efecto promedio de la muestra de genes que un padre pasa a su progenie se denomina diferencia de la progenie (PD) y corresponde a la mitad de su valor genético:

$$PD = \frac{1}{2}BV$$

El BV de un animal está en función al efecto independiente de un gen para un rasgo. El contexto independiente es utilizado para separar el efecto de un gen de otro gen o del efecto del medio ambiente. Se toma solamente el efecto por sí solo del gen tomando en cuenta que su efecto es aditivo en el sentido de que su valor genotípico es heredable. Entonces el BV se debe a la suma del efecto aditivo de todos los genes que influyen en un rasgo. Por lo tanto, el BV es

simplemente la suma del efecto independiente de los genes para un rasgo de un animal. La predicción del BV para la cría es llamado valor genético estimado (EBV) y es un valor predicho para una variable de interés (ej. producción de leche, DA, número de embriones, intervalo entre partos).

$$\overline{BV} \text{ cría} = \frac{1}{2}BV_{Padre} = \frac{1}{2}BV_{Madre}$$

El objetivo principal del EBV es seleccionar animales sobresalientes de acuerdo a su potencial predicho de manera más rápida (Van Vleck *et al.*, 1987). Por lo tanto, el EBV es la suma de las capacidades de transmisión de genes de ambos padres, puesto que el valor genético aditivo es una función a los genes transmitidos de los padres a la progenie (Van Vleck *et al.*, 1987; Mrode, 2005).

#### **2.4 Heredabilidad para días abiertos**

La heredabilidad es un parámetro genético de un carácter dentro de la población y se utiliza para la estimación de los valores genéticos de características cuantitativas y para medir la respuesta esperada de diversos esquemas de selección (Van Vleck *et al.*, 1987). La heredabilidad puede definirse en sentido “amplio” o en sentido “estricto”. La heredabilidad en sentido amplio, denotado  $h_B^2$ , se define como la relación de la varianza genética y la varianza fenotípica:

$$h_B^2 = \sigma^2 G / \sigma^2 P$$

La heredabilidad en sentido estricto, denotado como  $h^2$ , se define como la relación de la varianza genética aditiva y la varianza fenotípica:

$$h^2 = \sigma^2 A / \sigma^2 P$$

Por lo tanto, es la proporción de la varianza total que se debe a las diferencias entre los valores genéticos aditivos del individuo en la población (Van Vleck *et al.*, 1987). Por lo tanto, la  $h^2$  es considerada como el parámetro fundamental para la selección, puesto que determina la cantidad de variación total encontrada en una característica que es atribuida al efecto aditivo de los genes, es decir, a la herencia. Los programas de selección han hecho hincapié en los rasgos de rendimiento productivo en función a la rentabilidad económica del establo, mientras que los rasgos de heredabilidad más bajos, como la fertilidad, han recibido poca presión de selección directa (Dekkers, 2004). La  $h^2$  en parámetros reproductivos tiene un rango de 0.02 a 0.10%, variando por efecto razas, poblaciones y tipo de rasgo reproductivo (Cammack *et al.*, 2009; Aguilar *et al.*, 2011).

González-Recio y Alenda (2005) indicaron que en ganado lechero español la  $h^2$  para rasgos reproductivos tiene un rango de 2 a 6 %. Boonkum *et al.* (2011) estudiaron el porcentaje de pureza de la raza Holstein y encontraron que vacas que son 87 % Holstein tienen  $h^2$  para el carácter edad a primer parto entre 7.1 a 8.4 %, mientras que para vacas que son 87 % a 93.6 % Holstein su  $h^2$  fue de 5.9 a 8.0 % y para vacas con un porcentaje mayor al 93.6 % de pureza la  $h^2$  fue de 5.8 a 7.8 %. La  $h^2$  para la edad a segundo parto fue de 6.3 a 7.9 %, 4.9 a 7.3 % y 4.5 a 7.7 % respectivamente para los mismos porcentaje de pureza. En ganado de carne Goyache *et al.* (2005) reportaron una  $h^2$  para DA de 0.197 para vacas de segundo parto mientras que vacas con diez o más partos su  $h^2$  disminuyó 0.091. En un estudio realizado por Van Raden *et al.* (2004) indicaron que  $h^2$  para DA tuvo un rango de 4 a 6 %.

## **2.5 Factores que influyen negativamente en el potencial genético reproductivo**

Se ha descrito que factores como enfermedades, nutrición y el clima influyen de una manera muy significativa en el potencial genético animal (West, 2003). La tendencia

estacional para DA es parcialmente atribuida a la variación de la temperatura ambiental (Pszczola *et al.*, 2009; Tao *et al.*, 2012).

### **2.5.1 Enfermedades**

Los trastornos reproductivos pueden tener un impacto importante en la rentabilidad de un hato lechero (Huzzey *et al.*, 2007). La identificación temprana de las vacas enfermas es un componente crítico de cualquier programa de salud del hato lechero. Enfermedades como metritis y endometritis se asocian significativamente al aumento de DA, aumento del número de inseminaciones, etc. (Melendez *et al.*, 2004; Huzzey *et al.*, 2007).

Galvão (2013) indicó que la metritis se caracteriza por una descarga fétida dentro de los primeros días en leche. Esta inflamación del útero afecta alrededor del 20 % al 40 % de las vacas (Galvão *et al.*, 2009). Sheldon *et al.* (2006) indicaron que la presencia de agentes bacterianos en el útero puede provocar endometritis subclínica (EDS). La EDS se caracteriza por la presencia de neutrófilos en las citologías uterinas entre los primeros 23 días en leche. La endometritis clínica (EC) se caracteriza por la presencia de más del 50 % pus en la descarga uterina después de los 26 días en leche, afecta a alrededor del 20 % de las vacas y la prevalencia oscila entre 5 y 30% en algunos establos (Sheldon *et al.*, 2006; McDougall *et al.*, 2007). En un estudio realizado por Schuenemann *et al.* (2011) observaron que las vacas que presentaban una mayor suciedad en el área perianeal antes del parto eran la que presentaban mayor incidencia de infecciones uterinas (28%) contra vacas libres de suciedad (11%), factor que disminuía la fertilidad.

Consecuentemente, las patologías reproductivas aumentan DA, disminuyen los partos por año y por consecuencia la producción de leche disminuye. Encontrar maneras rápidas y efectivas de contrarrestar el efecto negativo de las enfermedades es de gran importancia para

los establos lecheros. Biotecnologías como la selección de marcadores moleculares puede ser una gran opción para encontrar aquellas vacas resistentes a enfermedades.

### **2.5.2 Nutrición**

Los avances tecnológicos en materia de nutrición han generado nuevas formas de alimentación para los bovinos. La nutrición se basa en la inclusión de concentrados para poder alcanzar niveles elevados de eficiencia productiva, tanto para carne como leche. El ganado lechero actual requiere de nutrientes básicos para cumplir las demandas de productividad. En virtud de las presiones a que son sometidas las vacas productoras de leche, se lleva a la vaca al límite metabólico, derivando enfermedades que inciden en producción (Rhoads *et al.*, 2009).

Durante el balance energético positivo, la hormona del crecimiento (GH), derivada de la hipófisis, se encarga de la partición de nutrientes hacia la glándula mamaria y estimula la síntesis y secreción del factor de crecimiento insulínico (IGF) (Rhoads *et al.*, 2009). En el balance energético negativo, el eje somatotropico se desacopla y disminuye la producción de GH y de IGF. El balance energético negativo puede poner en peligro la función del cuerpo lúteo y por lo tanto la implantación del óvulo fecundado (Leroy *et al.*, 2008). La falta de nutrientes puede alterar el microambiente del útero, porque la fertilización óptima y el crecimiento embrionario se pueden ver comprometidos. Moallem *et al.* (2011) examinaron el efecto de altos porcentajes de proteína cruda de la dieta sobre las características de los folículos preovulatorios en vaquillas y encontraron que dietas con alto porcentaje de proteína mayor diámetro del folículo (12.3 mm) que con dietas con moderada y baja proteína (12.1 y 11.8), respectivamente.

### 2.5.3 Estrés calórico

West (2003) menciona que el término estrés térmico se utiliza ampliamente para referirse al efecto de los elementos del clima que ocasionan una respuesta compensatoria del ganado para mantener homeostasis, ya sea fisiológica (aumento de respiraciones por minuto, jadeo) o productiva (reduce su producción). Arias *et al.* (2008) indican que la complejidad de los procesos fisiológicos, endocrinos y metabólicos del ganado lechero se encuentran en un estado de cercana interacción con el entorno que lo rodea. Los elementos del clima que impactan negativamente en la producción y reproducción de los establos lecheros son: temperatura ambiental, humedad, radiación solar, movimiento del aire y precipitación pluvial (Renaudeau *et al.*, 2012).

De acuerdo a la ubicación geográfica de la explotación lechera será el grado de impacto de las variables climáticas (West, 2003). Investigaciones previas indican que la zona de confort para una vaca en producción es de 25 a 26 °C, dependiendo de la producción de leche, humedad ambiental y el tiempo de aclimatación (Renaudeau *et al.*, 2012). Cabe mencionar que el efecto combinado de la temperatura y la humedad relativa ambiental puede ser representado a través del índice de temperatura-humedad (ITH) (Bohmanova *et al.*, 2007). Cuando el ITH es  $\geq 72$ , la producción de leche decrece (Armstrong, 1994). Aunque investigaciones recientes han determinado que a partir de 68 unidades de ITH el ganado lechero de alta producción comienza a presentar una disminución en su producción de leche (Zimbelman *et al.*, 2009).

El estrés por calor disminuye los niveles y funcionalidad en hormonas reproductivas (Hansen y Arechiga, 1999), compromete el establecimiento de la gestación (Lozano-Domínguez *et al.*, 2010), el crecimiento fetal se ve afectado (Tao *et al.*, 2012) y reduce la tasa

de concepción (Correa-Calderón *et al.*, 2002, Avendaño-Reyes *et al.*, 2007; Khodaei-Motlagh *et al.*, 2011), lo cual incrementa los DA.

En el ganado Holstein la selección genética para mejorar el rendimiento productivo ha provocado un incremento de la producción de calor metabólico, aumentando la susceptibilidad al estrés por calor por parte del animal (Renaudeau *et al.*, 2012). Boonkum *et al.* (2011) compararon el porcentaje de pureza de la raza Holstein bajo estrés por calor y encontraron que vacas con 87 % Holstein tienden a tener menor DA durante su primer parto (154 d) en comparación con vacas con un porcentaje de Holstein entre 87% y 93.6 % (166 d y 176 d). De igual forma con las mismas comparaciones mencionadas anteriormente, en el segundo parto las vacas 87 % Holstein tuvieron menor DA (158, 171, 187 d respectivamente). Por lo tanto, el estrés por calor contribuye a la baja fertilidad de las vacas lecheras inseminadas durante épocas calurosas y reduce la confiabilidad de predicciones genéticas.

## **2.6 Estrategias para maximizar la reproducción animal bajo un clima cálido**

Las estrategias para reducir el estrés por calor han sido diferenciadas en tres grupos: 1) disminución de la producción de calor metabólico controlando la calidad y cantidad de la ingesta de alimento, 2) mejoramiento en la capacidad de pérdida de calor mediante la modificación ambiental y 3) establecimiento de programas de mejoramiento genético (West 2003; Collier *et al.*, 2006; Renaudeau *et al.*, 2012).

En los establos lecheros se evita el constante movimiento del ganado debido a que el animal puede incrementar la temperatura corporal entre 0.5 y 3.5°C (Mader *et al.*, 2007). El agua es la forma más eficiente y rápida para reducir el calor; es por eso que se recomienda tener suficiente espacio de bebedero, mantenerlos limpios y siempre conservar el agua fresca. Cambiar el horario de alimentación a horas de la noche puede incrementar el consumo de

alimento del ganado y disminuir problemas como la acidosis subclínica y estrés por calor (Mader *et al.*, 2007; Arias *et al.*, 2008). Diferentes ingredientes en la dieta pueden producir distintos incrementos de calor a pesar de tener concentraciones similares de energía. Grasas y aceites presentan el menor incremento en calor metabólico. La reducción del consumo de materia seca o de la energía total ha demostrado reducir la susceptibilidad al estrés por calor, sin embargo, también en una menor producción de leche (Renaudeau *et al.*, 2012).

Probablemente uno de los primeros pasos a seguir para reducir los efectos estresantes debido a la radiación solar es la instalación de sombras. Los diferentes tipos de sombras abarcan desde ramas de árbol, sombras metálicas y de materiales sintéticos. Las sombras deben de estar a una altura de 4.3 metros cubriendo un espacio de 3.5 a 5.6 m<sup>2</sup> de espacio por vaca, con una orientación norte a sur (Mader *et al.*, 2007). Se estima que la carga total de radiación solar podría reducirse de 30 a 50% con una sombra bien diseñada. Vacas con sombra tienden a presentar menor temperatura rectal en comparación con vacas sin sombra (38.9 vs 39.4°C), de igual manera la frecuencia respiratoria (54 vs 82 respiraciones/min) (Collier, 2006).

Los sistemas de refrigeración son aquellos que disminuyen la temperatura corporal de la vaca por medio de ventiladores y difusión de agua sobre el dorso del animal intermitentemente. Estos sistemas se dividen en: sistemas de alta presión y baja presión. En climas donde la temperatura es alta y la humedad es menor de 45 % se utiliza el sistema de alta presión, ya que los difusores (nebulizadores y rociadores) arrojan el agua en gotas finas simulando una capa de neblina, elevando la humedad y bajando temperatura ambiental que rodea al ganado, ayudándole a disipar el calor por medios evaporativos. Por el contrario, en climas cálidos y húmedos (> 45 % de HR), es importante utilizar enfriamiento de baja presión mediante aspersores que simulen gotas de lluvia, las cuales puedan penetrar la cubierta y

llegar hasta la superficie de la piel intercambiando calor por medio de conducción (Collier, 2006).

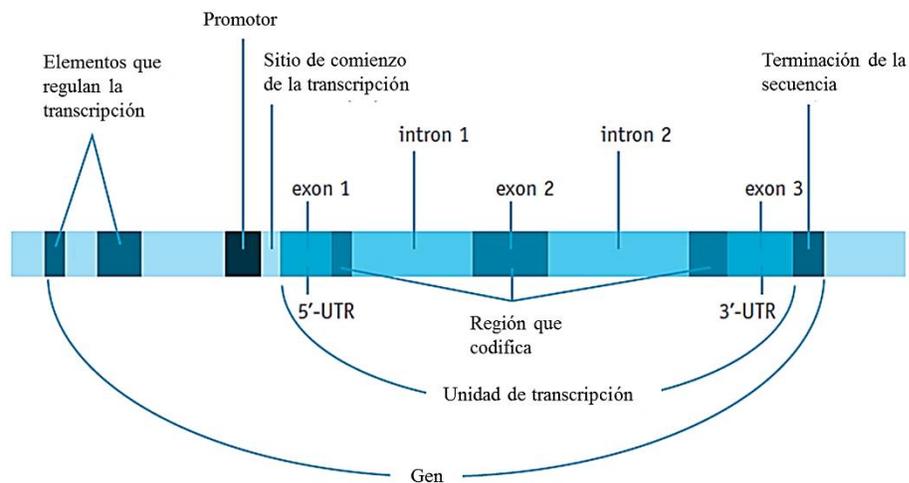
Las técnicas de selección de la cría del ganado lechero llevan aplicándose por muchos años, sin embargo, no toman en cuenta de manera eficiente todas las fuentes de variabilidad genética (Umesh *et al.*, 2014). Las técnicas moleculares, como la selección asistida por marcadores (MAS), pueden hacer que la selección genética sea mucho más precisa—debido a que se pueden identificar los genes que en realidad tiene relación con el fenotipo reproductivo (Meuwissen *et al.*, 2001; Lindhé y Philipsson, 2008; Dekkers, 2012). Por lo tanto, se puede pensar que al aplicar tecnologías moleculares como la MAS, junto con las tecnologías de alimentación y modificaciones ambientales se puede elevar la reproducción del ganado lechero durante un clima caliente.

## **2.7 Estudio del genoma completo**

El estudio de asociación del genoma completo (GWAS) en el bovino radica en buscar en todo el genoma genes y sus variantes (SNP, polimorfismos de nucleótido simple) asociados con regiones de rasgos cuantitativos (QTL) (Dekkers, 2012). La parte funcional del ADN son los genes; así, los QTL pueden estar constituidos por múltiples genes (> 50 a tal vez cientos) que pueden estar involucrados en la expresión de una proteína (Banos *et al.*, 2008; Dekkers, 2012). Desde la secuenciación de los 30 cromosomas que conforman el genoma bovino, se han encontrado alrededor de 22,000 genes (Elsik *et al.*, 2009; Fortes *et al.*, 2013). Actualmente, el número de genes de acuerdo al Centro Nacional de Información sobre Biotecnología aumentó a alrededor de 37,000.

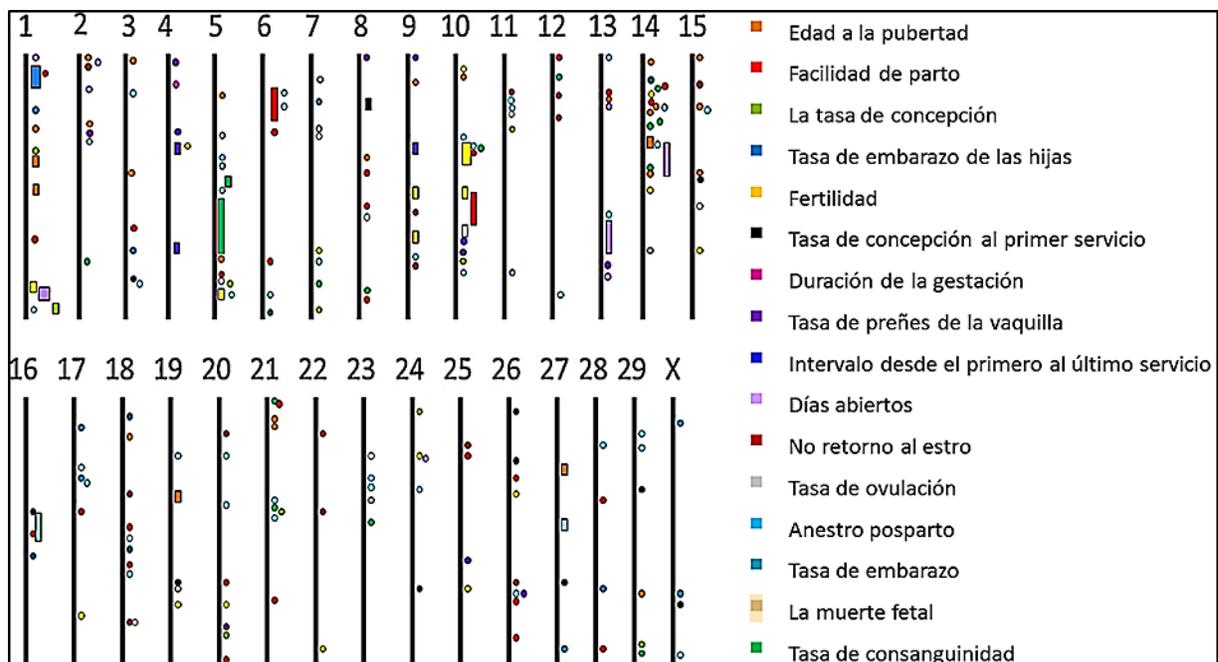
El gen contiene regiones que codifican para una proteína llamadas “exones” y regiones que no codifican llamadas “intrones”. Durante el procesamiento del RNAm, los intrones se

eliminan quedando solamente los exones. Por otra parte, el gen contiene secuencias que no se traducen (5' UTR y 3' UTR) en una proteína. La 5' UTR se extiende desde el sitio de nivelación para el comienzo de la secuencia codificante de la proteína, mientras que la 3' UTR indican el final de la secuencia (**Figura 1**). Sin embargo se ha encontrado que en regiones UTR hay genes asociadas a caracteres cuantitativos como la reproducción y producción (Campbell and Reece, 2007).



**Figura 1.** Representación esquemática de la estructura de un gen (Griffiths *et al.*, 2000).

Por último, gracias al GWAS se han desarrollado investigaciones encontrando asociaciones del fenotipo reproductivo con QTL en todos los cromosomas (**Figura 2**), lo que puede ser un importante inicio para desarrollar estrategias para la mejora genética de un sistema productivo (Elsik *et al.*, 2009; Weller *et al.*, 2011; Cochran *et al.*, 2013; Fortes *et al.* 2013).



**Figura 2.** Representación esquemática de QTL reportados para rasgos de fertilidad del ganado vacuno (Fortes *et al.*, 2013).

## 2.8 Tipos de marcadores moleculares

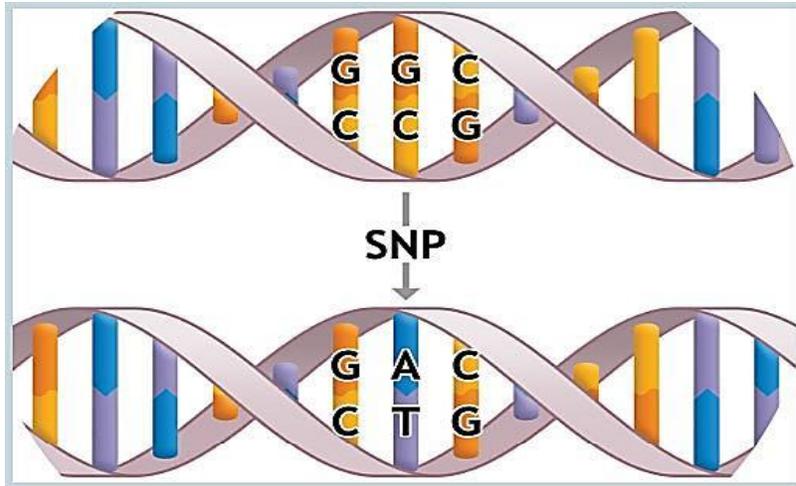
Un marcador molecular es un gen o una variante que marca aquellas variaciones específicas del ADN y es usado para identificar asociaciones entre el genotipo y fenotipo (Dekkers, 2012). Un marcador molecular puede tener un impacto sustancial en la explicación de la evolución y conservación de la especie (Morin *et al.*, 2004). En investigaciones previas, dos tipos de marcadores se han destacado por su precisión y por la información que brindan al investigador. Así, basados en la definición polimórfica y en la metodología utilizada para descubrirlos, se pueden clasificar en: microsatélites (SSR) y polimorfismo de nucleótido simple (SNP) (Makker, 2005; Umesh *et al.*, 2014).

### 2.8.1 Microsatélites

Los SSR (Repeticiones de secuencia única) consisten en un tramo de ADN de unos cuantos nucleótidos de longitud de 2 a 6 pares de bases (pb) que se repiten varias veces en tándem (ej. CACACACACACACACA). Están diseminados por todo el genoma de los eucariotas. El nivel de mutación en la longitud SSR es alto, lo que los hacen valiosos para marcadores de genes que controlan los rasgos económicos en la cría de animales (Visscher *et al.*, 2002). Los SSR son de un tamaño relativamente pequeño y, por consiguiente, pueden ser fácilmente amplificados con el PCR usando ADN extraído de fuentes diversas, como la sangre, el pelo, la piel, e incluso las heces. Los microsatélites son hipervariables; muestran a menudo decenas de alelos en un locus que difieren entre sí en el número de repeticiones. Siguen siendo los marcadores de elección para estudios de diversidad y para análisis de parentesco (pruebas de paternidad) (Visscher *et al.*, 2002; Fisher *et al.*, 2009).

### 2.8.3 Polimorfismo de nucleótido simple

En el caso específico del SNP, se define como una posición específica de una pb dentro de un genoma cuyo valor alélico varía en al menos el 1% de la población. Un SNP consiste en una variación o mutación resultante de la sustitución de un solo nucleótido (**Figura 3**), cambio que puede alterar la composición de una proteína y producir nuevas variantes funcionales (Koopae y Koshkoiyeh, 2014; Umesh *et al.*, 2014). En la era molecular, los SNP's son los marcadores moleculares más utilizados a través de todo el genoma para la MAS debido a que es un marcador bialélico, por su estabilidad genética y susceptibilidad al análisis de alto rendimiento automatizado, así como son los marcadores moleculares más abundantes a través de los seres vivos (Waters *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013).



**Figura 3.** Representación esquemática de un polimorfismo de nucleótido simple.

## 2.9 Selección genómica (GS)

La selección basada en el genoma (GS) concurre con el descubrimiento de SNP a través del genoma completo (Hayes *et al.*, 2009). El uso de la GS se debe a dos razones: 1) la reciente secuenciación del genoma bovino, lo que llevó al descubrimiento de muchos miles de marcadores de ADN en forma de SNP, y 2) se demostró que era posible tomar decisiones de selección muy precisas cuando los valores de cría se predijeron a partir de marcadores (Hayes *et al.*, 2009; De Roos *et al.*, 2011). Estudios previos indican que la GS tiene el potencial de revolucionar la selección animal replicando rasgos de interés en las vaquillas de reemplazo (De Roos *et al.*, 2011; Dasonneville *et al.*, 2011; Fortes *et al.*, 2013).

Las herramientas de selección molecular como la GS tienen el potencial de duplicar la ganancia genética en los esquemas tradicionales de cría debido a una reducción sustancial en los intervalos de generación y un aumento de la intensidad de selección (Schaeffer, 2006; König *et al.*, 2009; Moser *et al.*, 2010). Thomasen *et al.* (2013) indicaron que el valor genómico obtenido en su estudio fue genética y económicamente superior al régimen de

mejoramiento convencional. Adicionalmente, diferentes investigaciones indican que la GS dará más precisión a la estimación del valor de cría del ganado lechero (Hayes *et al.*, 2009; Dassonneville *et al.*, 2011; De Roos *et al.*, 2011). Finalmente, el valor de cría estimado genómico (GEBV) se calcula sumando los efectos de los marcadores (SNP) o haplotipos a través de todo el genoma (Thomasen *et al.*, 2013).

## **2.10 Selección asistida por marcadores moleculares**

El uso de la selección asistida por marcadores (MAS) en programas de cría de ganado lechero se ha estudiado ampliamente antes de la secuenciación del genoma completo (Schrooten *et al.*, 2005). En comparación con la GS, la MAS es realizada con pocos SNP (Dekkers, 2012). La MAS identifica variantes génicas deseables en el ganado lechero, realizando una selección objetiva que incrementará paulatinamente a través de los años debido a que se basa en variaciones del ADN que se encuentran asociadas a locus para características cuantificables QTL (Guillaume *et al.*, 2008).

La importancia de la MAS radica en que se pueden utilizar para llevar a cabo la genotipificación de bovinos en distintas explotaciones lechera con un costo reducido, facilitando al productor detectar a aquellas vacas que son portadoras de genes deseables y con ello desarrollar programas de selección (Dekkers, 2004; Mrode, 2005). Khatib *et al.* (2009) proponen el uso de genes individuales, así como una red genética que se pueda utilizar en programas de selección para mejorar el rendimiento productivo y reproductivo del ganado lechero. Luna-Nevárez *et al.* (2012) proponen al PAPP2 como gen candidato para ser utilizado en programas reproductivos de ganado Romosinuano. Por último, la selección de toros jóvenes mediante marcadores moleculares puede aumentar la predicción genética en 20 a 30% (Schrooten *et al.*, 2005). Por lo tanto, la MAS es una opción que puede ayudar a hacer

frente a los problemas asociados con la selección tradicional, seleccionando aquellos animales genéticamente superiores vía molecular (Guillaume *et al.*, 2008; Umesh *et al.*, 2014). La selección por marcadores es una herramienta que asiste a las técnicas tradicionales de selección animal, pero no reemplaza a los modelos tradicionales.

### **2.10.1 Valor genético molecular**

El valor genético molecular (MBV) puede originar soluciones a los problemas estadísticos referentes al mejoramiento genético (Weller y Ron, 2011). Primeramente, para obtener una óptima selección de cría en un hato lechero, el investigador deberá preguntarse específicamente como debe clasificar y combinar la información de pedigrí, registros fenotípicos y genotípicos. Goddard y Hayes (2007) propusieron que la MAS podría dividirse en 3 pasos: 1) Utilizar los marcadores moleculares para deducir el genotipo de cada animal en cada QTL asociado a un rasgo en particular. 2) Estimar los efectos de cada genotipo para un rasgo en particular. 3) Sumar todos los efectos de los genotipos de genes candidatos a selección para obtener sus valores genéticos estimados moleculares.

Por lo tanto, el MBV se refiere al método para calcular el BV a partir de genotipos de SNP's o haplotipos. En general, el MBV es la sumatoria del efecto aditivo de cada SNP significativo (Garrick, 2011; Akanno *et al.*, 2014). En otras palabras, el MBV es el valor genético calculado a partir el valor alélico de cada gen relacionado con un carácter de importancia económica. Cuando el valor genético es calculado a partir de marcadores que cubren todo el genoma es llamado valor de cría estimado genómico (Akanno *et al.*, 2014). De este modo, generar un MBV puede ayudar a explicar el potencial genético para la reproducción del ganado lechero bajo un determinado medio ambiente.

## **2.11 Genes relacionados con la reproducción del ganado lechero**

Hoy en día, existe un gran interés en el mapeo e identificación de genes y sus patrones polimórficos implicados en la regulación de los rasgos reproductivos. En consecuencia, se han encontrado un gran número de genes involucrados de manera importante a la fisiología reproductiva de la vaca. Sin embargo, existe muy poca información sobre la relación entre dichos genes y el parámetro reproductivo de DA, por lo tanto, resulta importante investigar e identificar a aquellos genes relacionados con tal parámetro reproductivo.

### **2.11.1 Gen de la hormona de crecimiento**

El gen de la hormona de crecimiento (GH1) se encuentra en el cromosoma 19 y contiene 5 exones que codifican para la GH. La GH es producida en las células somatotrópicas de la glándula pituitaria anterior. De la misma manera, la GH se puede producir en tejidos gonadales, placentarios y mamarios y puede actuar de manera parácrina o autócrina para regular los procesos locales regulados estratégicamente por la hipófisis. La liberación de GH estimula la liberación de las IGF en el hígado y es de importancia crítica en el control de la utilización de nutrientes para el crecimiento de la vaca (Sherman *et al.*, 2008).

El gen receptor de la hormona de crecimiento (GHR) pertenece a la gran familia de receptores de citoquinas (Blott *et al.*, 2003). Se encuentra en el cromosoma 20 y contiene 9 exones que codifican proteínas de punto de unión para GH. La GH se une a los dominios extracelulares de la molécula de GHR, provocando la dimerización del receptor y de ese modo inicia cascadas de señalización a través del dominio citoplasmático (Frank, 2001).

Como sus nombres lo indican, los genes GH1 y GHR codifican proteínas que intervienen en el desarrollo y crecimiento de la vaca, sin embargo, también son genes que están involucrados en procesos de diferenciación sexual, pubertad, esteroidogénesis,

gametogénesis y ovulación como también participan en la lactogénesis (Hull y Harvey, 2001; Akers, 2006; Banos *et al.*, 2008). Hull y Harvey (2001) indican que la GH, de forma independiente a la hormona folículo estimulante (FSH), juega un papel importante en el desarrollo folicular temprano y su acción en forma exógena aumenta el número de folículos pequeños en el ganado. Mullen *et al.* (2010) encontraron tres SNP del GH1 asociados a un menor intervalo entre partos y a una mejor tasa de preñes a primer servicio. Por lo tanto, un estudio más profundo sobre este gen y su receptor puede abrir las puertas hacia un mejoramiento genético, ya sea reproductivo o productivo.

### **2.11.2 Gen proteína de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina**

Los genes de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP) constituyen una familia de siete proteínas (IGFBP1 al IGFBP7) que se unen con una elevada afinidad a las IGF (I y II) (Pershing *et al.*, 2002). Para cada variante de las IGFBP, su localización en el genoma y el número exones puede variar según la función específica de cada IGFBP en el organismo animal. La principal célula que produce IGFBP es el hepatocito del hígado. Sin embargo, también se pueden producir en la anatomía reproductiva, por ejemplo, las células de la granulosa, teca intersticial y superficie cortical del estroma (Song *et al.*, 1996; Pershing *et al.*, 2002).

Las IGFBP1 han sido detectadas en las células de la teca intersticial y bajos niveles en células de la granulosa, mientras que las IGFBP2 abundan en el epitelio superficial del ovario y células de la granulosa de folículos antrales incluyendo folículos dominantes. El IGFBP3 es localizado en los ovocitos en el endotelio vascular del ovario que va a ovular y en la superficie cortical de estroma. Las IGFBP4 se presentan en las células de la granulosa y en cerdos se encuentra en elevadas concentraciones en el cuerpo lúteo. Las IGFBP5 se expresan en el

estroma del ovario, la IGFBP6 se detectan niveles bajos en la teca interna, mientras que el IGFBP7 no existen datos se su expresión (Geisert *et al.*, 1991; Song *et al.*, 1996; Keller *et al.*, 1998).

En cuanto la función biológica, las IGFBP junto con las IGF tienen acción estimuladora del crecimiento, potencializan la acción de la insulina y regulan la proliferación celular del animal (Granada-Ybern, 2006). Las IGFBP, por su evidente expresión en el ovario, están involucradas en la selección folicular, proteólisis y luteólisis (Aad *et al.*, 2006).

### **2.11.3 Gen de la proteína plasmática A asociada con la gestación**

La proteína del gen PAPP (pregnancy associated plasma protein A, por sus siglas en inglés) es un complejo heterotetramero de dos subunidades (PAPP1 y PAPP2). Recientemente, se ha descubierto que el gen PAPP es una metaloproteinasa de zinc expresada en la placenta como también en las células de la granulosa del ovario. En las células de la granulosa de folículos pequeños la secreción de PAPP son bajos, sin embargo, en folículos dominantes la secreción son a niveles altos. Se ha demostrado que la expresión de PAPP en niveles altos tiene actividad reguladora de la biodisponibilidad de IGF en células de diferenciación y proliferación a través de la degradación de IGFBP4 y 5 (Conover *et al.*, 2011).

Luna-Nevárez *et al.* (2012) indicaron que un polimorfismo del PAPP2 (C/T, rs110490898), se asoció a una reducción de 37 d en la edad al primer parto y 65 d en la edad al segundo parto en vacas de la raza Romosinuano. Wickramasinghe *et al.* (2011) indicaron que una SNP del gen PAPP2 es asociada a la salud del ganado Holstein e indicaron que puede ser utilizado como marcador molecular por su asociación positiva con la actividad reproductiva y productiva.

#### **2.11.4 Gen transductor de señal y activador de la transcripción**

El gen transductor de señal y activador de la transcripción (STAT) es un sistema complejo de genes integrado por siete proteínas (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT6) que participan en la activación de procesos enzimáticos requeridos para la síntesis de IGF-1, GHR y prolactina (PRL). Está implicado específicamente en la estimulación del gen PRL para formar caseína en el tejido mamario (Akers, 2006; Khatib *et al.*, 2009). Las proteínas STAT son factores de transcripción que desempeñan papeles importantes en las vías de señalización de citoquinas (Khatib *et al.*, 2009). Estos mismos autores indicaron que una variante STAT5A (SNP153137) se asocia a la tasa de supervivencia y fecundación. Se piensa que STAT, por su evidente participación en la fecundación, podría tomarse en cuenta en la MAS para mejorar otros rasgos reproductivo.

#### **2.11.5 Otros genes relacionados con la reproducción**

El factor de crecimiento semejante a la insulina tipo-I (IGF-1) está implicado en diferentes procesos reproductivos incluyendo el desarrollo fetal (Geisert *et al.*, 1991). Este gen se encuentra en el cromosoma 5 y contiene 6 exones (Rotwein *et al.*, 1986). Moore y Thatcher (2006) sugirieron que el IGF-1 puede ser un gen candidato para mejorar la función ovárica debido a su relación con las ondas foliculares. Rhoads *et al.* (2008) mencionaron que el sistema GH / IGF juegan un papel importante en la transición metabólica que favorece la alta producción. También mencionaron que el sistema GH / IGF se encuentran en los tejidos reproductivos donde sirven varias funciones, incluyendo efectos positivos sobre la esteroidogénesis.

El gen supresor de la señalización de citoquinas (SOCS) en ganado vacuno incluye siete familias de proteínas las cuales regulan la inhibición de la transducción de señales de citoquinas. Krebs y Hilton (2000) indicaron que las citoquinas regulan funciones celulares a través de la activación del gen janus quinasa (JAK) y STAT, que está regulada negativamente por proteínas SOCS. Winkelman *et al.* (2008) indican que después del parto el eje somatotrópico se desacopla debido a la reducida concentración del GHR, indican que un aumento tanto del estradiol como la señalización de SOCS2 inhibe la señalización de GH y GHR.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### 3.1 Sitio de estudio y población experimental

El presente estudio se llevó a cabo en tres establos lecheros comerciales (POSTA, UEPA, LLANO) localizados en el Valle del Yaqui, Ciudad Obregón, Sonora, México, y la población estuvo conformada por un total de 510 vacas de la raza Holstein, hijas de 159 toros de registro y 360 vacas. La aportación individual de cada establo y su ubicación fue la siguiente: Establo la “POSTA” (n=72) y la “UEPA” (n=227) se localizan en el block 910 ( $N: 27^{\circ}21'49.19''$ ,  $O: 109^{\circ}54'48.48''$ ), mientras que el establo “EL LLANO” (n=211) se encuentra en el block 1114 ( $N: 27^{\circ}19'15.49''$ ,  $O: 109^{\circ}52'0.8.58''$ ).

### 3.2 Datos reproductivos

El presente estudio consistió en la toma de registros reproductivos de 510 vacas para analizar su periodo de DA. Los registros reproductivos comprendieron los años 2011, 2012 y 2013 (**Cuadro 1**). Los DA se definieron como el periodo comprendido del día del parto al día de la siguiente concepción. La réplica de datos, registros sin coherencia y valores <22 días fueron retirados del conjunto de datos (Pszczola, *et al.*, 2009). El rango de DA se estableció entre 25 y 198 días, datos >198 d se eliminaron (VanRaden *et al.*, 2004).

Las vacas fueron palpadas entre el d 20 y 25 para descartar problemas patológicos (infecciones uterinas, quistes ováricos) y posteriormente, al d 40 se aseguró la presencia de cuerpo lúteo (CL) para determinar la ciclicidad de la vaca. El periodo de espera voluntario fue de ~50 días, después todas las vacas que no fueron inseminadas en un celo natural, se incluyeron en un tratamiento hormonal para sincronizar la ovulación y realizar la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) a los 60 días. El diagnóstico de gestación se realizó mediante ecografía 30 días después de la IATF.

**Cuadro 1.** Registros reproductivos de acuerdo a la fecha y número de vacas.

MES	<sup>1</sup> Fecha de partos		<sup>1</sup> Fecha de gestación		
	Año 2011	Año 2012	Año 2011	Año 2012	Año 2013
Enero	10	44	0	108	6
Febrero	3	32	1	106	8
Marzo	1	7	2	79	*
Abril	0	1	3	42	*
Mayo	0	1	6	26	*
Junio	0	0	2	24	*
Julio	5	0	0	5	*
Agosto	42	2	0	0	*
Septiembre	86	2	0	0	*
Octubre	90	12	0	0	*
Noviembre	98	3	15	3	*
Diciembre	71	0	72	2	*

<sup>1</sup>Vacas que entraron en parto y su fecha de gestación, \*Meses no tomados en cuenta.

### 3.2.1 Manejo del ganado

En los tres establos lecheros las vacas fueron alojadas en corrales de manejo intensivo, con acceso libre al agua y sombra (4 m<sup>2</sup>/vaca). La ración de alimento no varía en gran magnitud entre los tres establos y esta suele ser basada 60 % de forraje y 40 % concentrado comercial los cuales cubren los requerimientos establecidos por el NRC (2001) para vacas lecheras con peso vivo de 550 kg, producción promedio de 30 kg/d, con una composición de 3.5 y 3.2 % de grasa y proteína en leche, respectivamente.

Durante los meses en que se registraron las más altas temperaturas las vacas eran colocadas en corrales bajo un sistema de enfriamiento de baja presión.. El enfriamiento de las vacas consistió en enfriar la vacas bañándolas cinco veces al día (variabilidad de uno a dos baños por establo) con duración de 5 min en cada baño (gasto de 15 L por vaca/serie), alternado con 10 minutos de ventilación forzada generada por abanicos eléctricos colocados en el área de la sala de ordeña a una altura de 2.80 m del piso.

### 3.2.2 Determinación de enfermedades

Se utilizó la prueba de California (Laboratorios Sanfer, S.A de C.V, Obregón, México) mensualmente para determinar la mastitis subclínica. Animales diagnosticados con mastitis clínicas no fueron incluidos en este estudio. Después del parto, se realizaron lavados uterinos y mediante ecografía se descartaban problemas de infección del útero. Los registros del estado de salud (mastitis subclínica y / o infección uterina) se recolectaron para todas las vacas y se utilizaron como una variable categórica, codificando como 0 para ninguna enfermedad y 1 para cualquier diagnóstico de enfermedad.

### 3.3 Índice de Temperatura-Humedad

Se consultó la Red de Estaciones Agroclimáticas del Estado de Sonora disponibles en [www.agroson.org.mx](http://www.agroson.org.mx) para coleccionar información climática de estaciones cercanas a los tres establos lecheros usados en este estudio. Se obtuvo datos de temperatura (TA; °C) y humedad relativa (HR; %), que fueron usadas para calcular el índice de temperatura-humedad (ITH) por año de estudio (Hahn, 1999). En el 2013 sólo se consideró la información climática referente a enero y febrero, ya que los registros reproductivos se terminan en esos meses.

$$ITH = 0.81 TA + HR (TA - 14.4) + 46.4$$

Cabe mencionar que basado en las unidades de ITH, el ambiente se clasificó como indicaron Zimbelman *et al.* (2009): Umbral de estrés (68 a 71 unidades), estrés medio-moderado (72-79 unidades), estrés moderado-severo (80-89 unidades) y estrés severo (90-98 unidades).

### 3.4 Recolección de muestras sanguíneas y genotipificación

Las muestras sanguíneas individuales se colectaron (0.5 ml) por punción de la vena coccígea para depositar de cinco a seis gotas de sangre en tarjetas *FTA-Cards<sup>TM</sup>* (fast technology for analysis of nucleic acids, por sus siglas en inglés) (GeneSeek). Las tarjetas fueron enviadas al Laboratorio Neogen / GeenSeek Inc., USA. Posteriormente en GeenSeek el ADN de todas las vacas fue extraído y purificado para la posterior genotipificación con el panel de 179 SNP, utilizando la plataforma comercial Sequenom MassArray (GeneSeek, Inc., Lincoln, NE).

Por ser un estudio de MAS, los 43 genes candidatos con sus variantes (179 SNP) se eligieron a partir de un panel de polimorfismos previamente identificados por el Departamento de Genética Molecular de la Universidad de California (Rincon, 2007). Los genes (**Cuadro 2**) se encuentran dentro del eje de la PRL y GH-IGF1 relacionados con funciones fisiológicas de termo-tolerancia, producción de leche y actividad reproductiva (Rincon, 2007; Collier *et al.*, 2008).

**Cuadro 2.** Panel de los 179 SNP's relacionados al eje funcional de PRL y de GH-IGF1.

Nombre del gen	Secuencias polimórficas
Arginina vasopresina (AVP)	3
Receptor de la vasopresina arginina-1A (AVPR1A)	3
Proteína SH2 inducible de citocinas (CISH)	2
Furin (Furin)	6
Receptor de la hormona de crecimiento (GHR)	1
Hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH)	6
Receptor de la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRHR)	2
Receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento (GHSR)	8
Factor de crecimiento semejante a la insulina tipo-I (IGF1)	1
Factor de crecimiento semejante a la insulina tipo-II (IGF2)	1

Receptor del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo-I (IGF1R)	11
Proteína 2 de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP2)	5
Proteína 3 de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP3)	2
Proteína 4 de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP4)	1
Proteína 5 de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP5)	5
Proteína 6 de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP6)	3
Proteína 7 de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGFBP7)	9
Oxitocina (OXT)	3
Receptor de oxitocina (OXTR)	3
Proteína plasmática A asociada con la gestación-1 (PAPPA1)	3
Proteína plasmática A asociada con la gestación-2 (PAPPA2)	7
Proteína convertasa subtilisina / kexina tipo-2 (PCSK2)	3
Inhibidor de la proteína de STAT activado-1 (PIAS1)	3
Prohormona concentradora de melanina (PMCH)	1
Prolactina (PRL)	5
Receptor de la prolactina (PRLR)	5
Secretogranina V (SCG5)	3
Supresor de la señalización por citocinas-1 (SOCS1)	4
Supresor de la señalización por citocinas-2 (SOCS2)	5
Supresor de la señalización por citocinas-3 (SOCS3)	2
Supresor de la señalización por citocinas-4 (SOCS4)	3
Supresor de la señalización por citocinas-5 (SOCS5)	1
Supresor de la señalización por citocinas-6 (SOCS6)	3
Supresor de la señalización por citocinas-7 (SOCS7)	7
Somatostatina (SST)	2
Receptor de la somatostatina-2 (SSTR2)	5
Receptor de la somatostatina-3 (SSTR3)	7
Receptor de la somatostatina-5 (SSTR5)	3
Transductor de señal y activador de la transcripción-1 (STAT1)	7
Transductor de señal y activador de la transcripción-3 (STAT3)	2
Transductor de señal y activador de la transcripción-4 (STAT4)	9
Transductor de señal y activador de la transcripción-5A (STAT5A)	2
Transductor de señal y activador de la transcripción-5B (STAT5B)	7
Transductor de señal y activador de la transcripción-6 (STAT6)	5
<b>TOTAL</b>	<b>179</b>

### 3.5 Calidad de datos y genotipos

Como control de errores de secuenciación no se tomaron en cuenta aquellas vacas que no cumplieron con un genotipado mayor al 90% (call rate > 90%) para los 179 SNP. La misma prueba de calidad fue aplicada individualmente para cada SNP, de tal manera que los SNP que no cumplieron con un genotipado mayor o igual al 90% para las 510 vacas fueron eliminados del estudio (Pryce *et al.*, 2010; Cochran *et al.*, 2013).

Como control de la proporción en la que un marcador polimórfico se presenta en la muestra se estimó la frecuencia de alelo menor (MAF), y su cálculo es  $P = (1 - P) / n$ , donde:  $P$  = frecuencia alélica y  $n$  = número de vacas. Todos aquellos genes que no cumplieron con una frecuencia mayor o igual al 10% para cualquiera de sus alelos (en toda la población) se eliminaron del estudio, ya que los SNP monomórficos no son informativos (Banos *et al.*, 2008; Schopen *et al.*, 2011).

La endogamia y los problemas de genotificación del PCR (delección o translocación de un gen) pueden provocar desviación en las frecuencias observadas de los genotipos (FOG) con respecto a las frecuencias esperadas de los genotipos (FEG). Por lo tanto, fue necesario realizar la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) para determinar el grado de desviación de las frecuencias genotípicas y así poder eliminar los SNP en desviación HWE ( $\chi^2 < 0.05$ ) (Balding, 2006; Garrett *et al.*, 2008).

### 3.6 Cálculo del valor de cría molecular

El MBV se obtuvo sumando el efecto aditivo alélico de cada genotipo para SNP que mostró una asociación significativa ( $P < 0.05$ ) con DA. La fórmula es la siguiente:

$$MBV_k = \sum_{i=1}^m W_{ik} \hat{g}_i$$

Dónde:

$MBV_k$  = k-ésimo valor genético molecular del animal.

$W_{ik}$  = Genotipo (AA, Aa, aa).

$\hat{g}_i$  = Efecto estimado del SNP en el i-ésimo locus (posición en el cromosoma).

$m$  = Número total de SNP significativos.

El MBV es calculado de acuerdo al número de copias alélicas favorables que presenta el genotipo, es decir, si una vaca presenta un genotipo homocigoto con dos copias favorables (AA) el efecto del alelo se multiplica por dos. Pero si es heterocigoto (Aa), solo se toma en cuenta el efecto de un alelo (sin multiplicarlo), o todo lo contrario si el genotipo es homocigoto (aa) con dos copias no favorables, es decir, el genotipo toma un valor igual a cero. Para evitar error de precisión el MBV fue calculado solamente para aquellas vacas que presentaban un genotipado igual al 100%, por lo tanto, se eliminaron aquellas vacas que no cumplieron este criterio (Akanno *et al.*, 2014).

### 3.6 Análisis estadístico

#### Medias y frecuencias alélicas y genotípicas.

Las medidas de tendencia central y dispersión se determinaron utilizando el procedimiento MEANS. Posteriormente, se realizó la prueba de HWE y se determinó la frecuencia del alelo menor (FAM > 10%) mediante el procedimiento PROC ALLELE (Sherman *et al.*, 2008). El PROC ALLELE utiliza la estadística de Pearson ( $\chi^2$ ) para comprobar si la frecuencias observadas de los genotipos (FOG) es igual a las frecuencias esperadas de los genotipos (FEG). Es decir:  $H0: FOG = FEG$  vs  $H1: FOG \neq FEG$ .

$$X_T^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Dónde:  $X_T^2$ = estadística acumulativa de Pearson,  $O_i$ = FOG,  $E_i$ = FEG,  $n$ = número de genotipos distintos= 3 (AA, Aa y aa). Para un nivel de significancia de  $\chi^2= 0.05$ , se rechazó H0 si  $FOG > FEG$  y se aceptó H0 si  $FOG \leq FEG$   $df, 1-\alpha$ :  $df$  = número de posibles genotipos – número de alelos.

### Modelo 1: Descubrimiento de SNP y su efecto.

La segregación de genes para un individuo es independiente entre sí y los factores medioambientales que modelan el efecto de un genotipo no se transmite, entonces el BV solo refleja el efecto aditivo de los genes (Bourdon, 2000; Sherman *et al.*, 2008). Por lo tanto, el BV está en función al valor genotípico de un gen. Primeramente para comprobar si el genotipo de un SNP es significativo se siguió el modelo básico (**consultar sub. 2.3, pág.5**) utilizando un modelo lineal mixto mediante PROC MIXED.

El modelo estadístico se describe a continuación:

$$Y_{ijklmn} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + E_m + F_n + e_{ijklm}$$

Dónde:  $Y_{ijklm}$ = valor fenotípico del carácter reproductivo,  $\mu$ = media poblacional,  $A_i$ = efecto fijo del genotipo (AA, Aa, aa),  $B_j$ = número de lactancias,  $C_k$ = efecto fijo del hato,  $D_l$ = efecto fijo del estatus de enfermedad (0 no enfermo y 1 enfermo),  $E_m$ = días en lactancia,  $F_n$ = efecto aleatorio del semental,  $e_{ijklm}$ = Error aleatorio.

Las variables que formaron el modelo estadístico fueron incluidas tomando en cuenta su poder explicativo para DA. Para elevar la confiabilidad del modelo se corrieron los supuestos de regresión los cuales fueron: prueba de normalidad para DA mediante PROC

UNIVARIATE; con este mismo procedimiento se buscaron datos que se encuentran muy lejanos de la media poblacional, si los hubo fueron retirados del análisis esto con el fin de reducir el error. Se utilizó PROC REG usando los comandos **tol**, **vif** y **collin** para la prueba de No-colinealidad. Mediante PROC GLM usando los comandos **hovtest** y **welch** se realizó la prueba estadística de homocedasticidad utilizada para evaluar la igualdad de varianzas. Mediante PROC AUTOREG usando el comando **dwprob** se realizó la prueba estadística de independencia o Autocorrelación para identificar si los valores de las variables tomadas en cuenta en el modelo presentan algún tipo de dependencia en cuanto al orden de obtención (Freud y Littell, 2000; Littell et al., 2002; Luna-Nevárez *et al.*, 2012).

Se realizó un análisis de tasa de falsos positivos (FDR) para los SNP que resultaron significativos ( $P < 0.05$ ) mediante PROC MULTTEST. La FDR se calculó como una alternativa de control para la tasa de error de descubrimiento de los SNP y se calculó como:  $FDR = m \cdot \frac{P}{S}$  donde:  $m$ = número de pruebas,  $P$ = es el valor de  $P$  usado en la prueba- $F$  y  $S$ = es el número de SNP con significancia ( $P < 0.05$ ) utilizada en estadística- $F$  (Pryce *et al.*, 2010; Chamberlain *et al.*, 2012).

Si el genotipo resultó ser una fuente de variación significativa ( $P < 0.05$ ) en el análisis asociativo para variables continuas, se utilizó la opción PDIFF del procedimiento LSMEANS para generar las comparaciones entre medias para cada genotipo, incluyendo el ajuste Bonferroni (Weir, 2001). Como se ha comentado, el BV está en función al valor aditivo del genotipo, por lo tanto, para conocer el valor genotípico de los SNP involucrados con DA se calculó la substitución alélica (efecto de 1 alelo favorable de un SNP) a través de un modelo mixto (igual que el anterior modelo), pero en esta ocasión se incluyó el término genotipo como

covariable (Sherman *et al.*, 2008; Cochran *et al.*, 2013), donde genotipo se clasificó de la siguiente manera:

Genotipo homocigoto= 0 (cero copias de alelo favorable).

Genotipo heterocigoto= 1 (una copia de alelo favorable).

Genotipo homocigoto= 2 (dos copias de alelo favorable).

Para conocer si el efecto de un gen es de tendencia aditiva o dominante, un análisis de contrastes ortogonales se desarrolló para los tres genotipos posibles (genotipo 0 vs 1, genotipo 0 vs 2 y genotipo 1 vs 2) (Luna-Nevárez *et al.*, 2012; Cochran *et al.*, 2013). El efecto aditivo y dominante de un gen se evaluó para determinar si el efecto significativo del SNP se debe a un genotipo homocigoto o heterocigoto. El efecto aditivo es determinado mediante la suma entre los dos homocigotos dividido entre dos. Mientras que el efecto dominante es determinado por el efecto del heterocigoto con respecto a la media de los dos homocigotos [(AA + aa) / 2 vs Aa] (Sherman *et al.*, 2008; Cochran *et al.*, 2013).

#### Modelo 2: Análisis reducido.

El poder explicativo del MBV se obtuvo a través de un modelo que consideró DA como variable dependiente y el MBV como una variable independiente usando el procedimiento PROC GLM. El modelo fue:

$$Y = \mu + X_{MBV}\beta_{MBV} + e$$

Dónde: Y= DA,  $\mu$ = media poblacional,  $X_{MBV} \beta_{MBV}$ = covariable y pendiente para MBV, y  $e$ = efecto residual.

### Modelo 3: Análisis completo.

Para conocer la interacción que existe entre MBV y otras variables independientes se construyó un modelo de regresión usando el procedimiento GLM para poder explicar DA. El modelo fue:

$$Y = \mu + X_{DIM}\beta_{DIM} + X_{MBV}\beta_{MBV} + X_{Lac.n}\beta_{Lac.n} + X_{H.stat}\beta_{H.stat} + X_{CG}\beta_{CG} + e$$

Dónde:  $Y=$  DA,  $\mu=$  media poblacional,  $X_{DIM} \beta_{DIM}=$  covariable y pendiente de los días en leche,  $X_{MBV} \beta_{MBV}=$  covariable y pendiente para MBV,  $X_{(Lac.n)} \beta_{(Lac.n)}$ ,  $X_{Hstat} \beta_{Hstat}$ ,  $X_{CG} \beta_{CG}=$  matrices de incidencia para el número de variables categóricas de lactancia, estado de salud y hato con vectores para efectos fijos, respectivamente, y  $e=$  vector de efecto residual.

Usando PROC CORR se realizó un análisis de correlación entre el MBV y las variables reproductivas, en especial DA. Todos los análisis fueron desarrollados utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System), versión 9.4 (SAS Inst. Inc., Cary, NC), que incluye las herramientas de análisis genéticos y moleculares (Saxton *et al.*, 2004).

### Modelo 4: Heredabilidad en sentido amplio.

La heredabilidad en sentido amplio, denotado  $h_B^2$ , se define como la relación de la varianza genética y la varianza fenotípica y fue calculada con el siguiente modelo:

$$Y = X_b + Z_a + e$$

Dónde  $Y=$  vector para DA,  $b=$  vector para efectos fijos, y  $a=$  vector para efectos aleatorios que incluye individualmente a la vacas. Los efectos fijos incluyeron: lactancia, hato, días de lactancia y enfermedad. La  $X$  y  $Z$  son matrices de incidencia relacionadas con los registros de efectos fijos y efectos aleatorios de los animales, y  $e$  fue el vector de efectos residuales aleatorios.

### Modelo 5: Heredabilidad en sentido estricto.

Al modelo de sentido amplio se le agrego el efecto aditivo MBV de los genes relacionados con DA. La diferencia del modelo 5 al 4 es que el 5 solo se toma en cuenta la varianza genética aditiva (valor sumado del genotipo) y el modelo 4 toma en cuenta la varianza genética (registro del fenotipo). Estos análisis fueron realizados utilizando el programa ASREML 3.0.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Descripción poblacional

En el **Cuadro 3** se observan estadísticos descriptivos de variables productivas y reproductivas usadas en el presente estudio. Para la población de vacas Holstein analizada, la media en PLA305 fue de  $6331 \pm 65$  kg, PLT fue de  $6307 \pm 78$  kg, DL fue de 300 d, mientras que el NL fue de 3, la media para DA fue de  $102 \pm 2$ , el IEP fue de 385 d y SC fue de 1.74.

**Cuadro 3.** Resumen estadístico relacionado con eficiencia reproductiva de la población.

Variable	n	Media	EE	Mínimo	Máximo
PLA305* (kg)	502	6331.12	65.34	636	10787
PLT (kg)	509	6307.64	78.00	372	11693
DL	510	299.64	2.40	21	429
NL	509	3.07	0.08	1	11
DA	510	102.35	1.60	25	198
IEP	510	384.50	1.60	307	480
SC	509	1.74	0.04	1	6

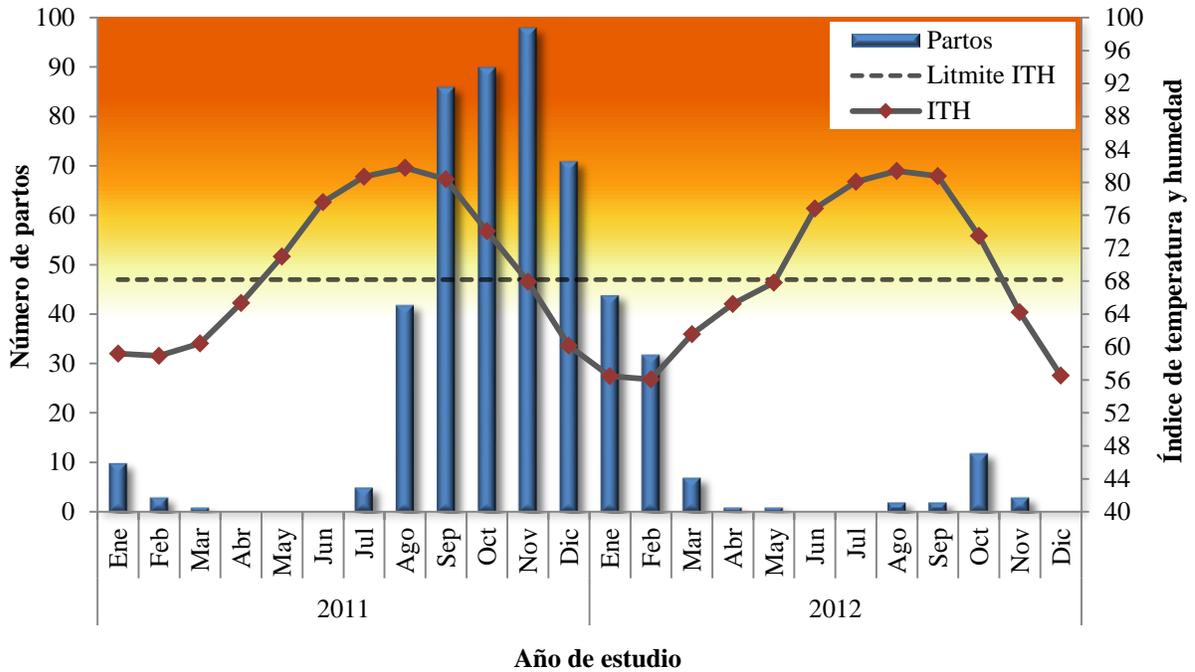
**PLA305**=Producción de leche ajustada a 305 días, **PLT**= Producción de leche total, **DL**=Días en leche, **NL**= Número de lactancia, **DA**= Días abiertos, **IEP**= Intervalos entre partos, **SC**= Servicios por concepción.

Bohmanova *et al.* (2007) estudiaron el efecto del estrés por calor en la producción de leche de 12,473 vacas y su media para DL fue de  $174 \pm 97$  d con un máximo de 365 d. Avendaño-Reyes *et al.* (2007) evaluaron el periodo seco de 24 vacas durante el verano y sus medias reproductivas reportadas fueron: para DA ( $128.3 \pm 12.8$  d), SC ( $2.9 \pm 0.9$ ). González-Recio y Alenda (2005) reportaron parámetros genéticos de fertilidad en 63,160 vacas y sus medias reportadas fueron: DA ( $117 + 57.1$  d), IEP ( $400 \pm 60.0$  d) y SC ( $1.87 \pm 1.18$ ). Por ultimo Goyache *et al.* (2005) reportaron un análisis genético para DA en ganado de carne y la media de DA en primer parto fue de  $122.42 \pm 68.65$  d y segundo parto  $106.77 \pm 62.73$  d, mientras que IEP para primer parto fue de  $411.17 \pm 73.32$  d y segundo parto  $394.55 \pm 65.03$  d.

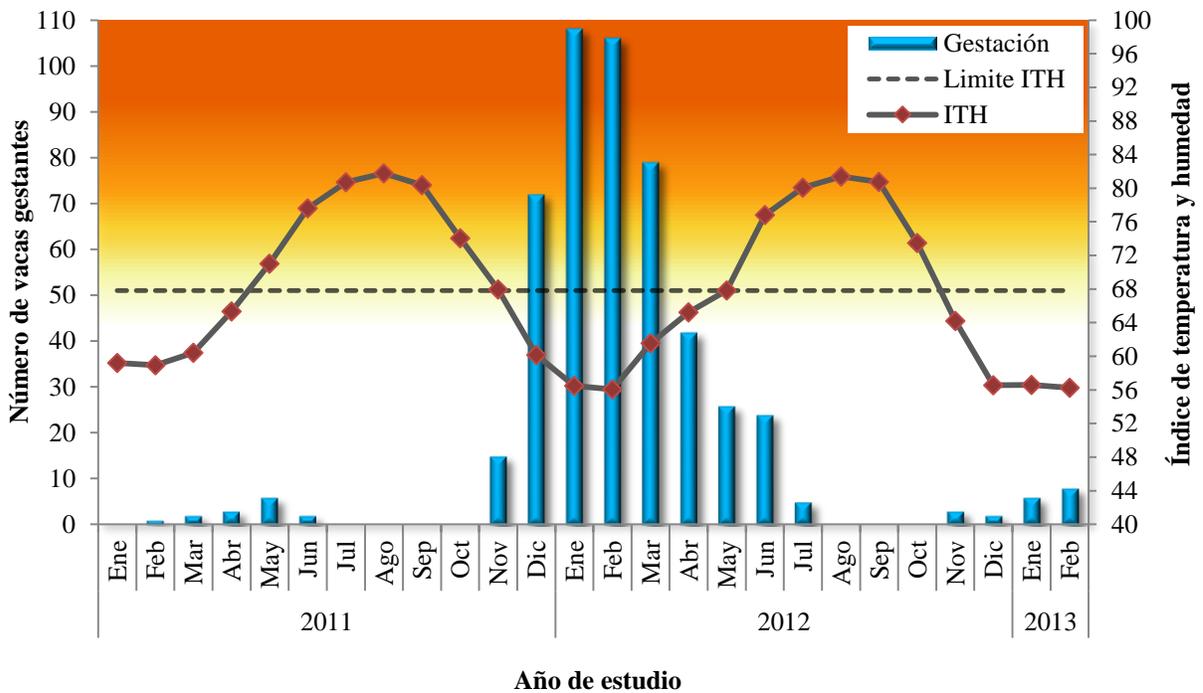
Los promedios observados en el hato bajo estudio son similares a los observados en vacas lecheras de otras zonas ubicadas en climas cálidos.

#### **4.2 Descripción climática**

En la **Gráfica 1** se observa el promedio del ITH durante la temporada de partos 2011 y 2012. En mayo el ITH alcanzó el umbral de estrés por calor (68 unidades), mientras que los partos a partir de julio aumentaron (n= 5), el ITH a partir de julio alcanzo un promedio de 80.6 unidades, manteniéndose hasta septiembre reduciendo 6 unidades en octubre. En noviembre el umbral de estrés no fue rebasado (67.94 unidades). Durante septiembre se presentaron 86 partos y el ITH alcanzó 80.3 unidades, mientras que octubre 90 partos y un ITH de 74.6 unidades y noviembre 98 partos siendo el mes con mayor partos y un con un ITH menor 68 unidades. En la **Grafica 2** se observa el ITH en la época de gestación 2011, 2012 y 2013. A partir de diciembre del 2011 el número de vacas gestantes aumentó (n= 72), siendo enero con el mayor número de vacas gestantes (n= 108), seguido por febrero (n= 106) y marzo (n= 79). Se puede observar que en junio del 2011 y junio y julio del 2012 fueron los únicos meses que registraron partos con umbral del ITH rebasado (77.82 unidades). Como se puede observar, la temporada reproductiva está diseñada pensando en la producción de leche, esto es debido a que si una vaca tiene un parto a finales de agosto y principios de octubre, su máxima producción de leche la va alcanzar en una temporada de frío, lo cual resulta conveniente para el productor. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que un número considerable de vacas pasan el último tercio de gestación y periodo seco en época cálida, poniendo en riesgo la gestación. Tao *et al.* (2012) indican que temperaturas elevadas comprometen el crecimiento fetal.



**Gráfica 1.** Promedios de ITH durante la temporada de partos 2011 y 2012.



**Gráfica 2.** Promedios de variables climáticas durante la gestación 2011, 2012 y 2013.

Debido a que existe evidencia del efecto del estrés por calor en el ganado Holstein, el ITH fue considerado como una variable descriptiva para conocer los meses en los cuales las vacas cursaban un estrés térmico durante el año. Avendaño-Reyes *et al.* (2007) evaluaron un sistema de enfriamiento aplicado en el periodo seco, más de 80 unidades de ITH ocurrió en julio, agosto y septiembre. En vacas no enfriadas el estrés por calor aumentó la tasa respiratoria (77.5 vs 83.7) y temperatura rectal (39.1 vs 39.3) en comparación con las enfriadas. Reproductivamente, la concepción total fue mayor en vacas enfriadas (100 vs 63.6%). La tasa de desecho para el grupo no enfriado fue del 42 % mientras que el grupo enfriado no presentó tasa de desecho. Correa-Calderón *et al.* (2014) evaluaron el efecto de la suplementación de progesterona y enfriamiento artificial sobre la eficiencia reproductiva de vaquillas. El ITH mínimo fue de 78 unidades mientras que el máximo de 86 unidades. La tasa de concepción fue similar, sin embargo, entre el grupo no enfriado y el grupo enfriado con progesterona requirieron menos días para su primer servicio comparado con el grupo solamente enfriado. Oltenacu y Broom (2010) mencionan que lo favorable para los productores es buscar una estabilidad productiva y reproductiva debido a que alta producción de leche reduce la fecundidad, aumenta los problemas metabólicos y disminuye la longevidad. Boonkum *et al.* (2011) determinaron que vacas que son 87 % Holstein tienden a tener menor DA en primer parto (154 d) bajo estrés por calor en comparación con vacas con un porcentaje de Holstein entre 87% y 93.6 % (166 d y 176 d). También encontraron que vacas 87 % Holstein tienden a tener menor DA bajo estrés por calor en su segundo parto en comparación con vacas con un porcentaje Holstein igual que la anterior (158, 171, 187 d) respectivamente. Con esto se concluye que el comportamiento reproductivo está marcadamente influenciado por el clima y la genética, por lo que el potencial genético reproductivo puede ser afectado.

### 4.3 Identificación de SNP relacionados con DA

Del total de 179 SNP's, solamente 82 genes cumplieron con la frecuencia del alelo menor (FAM > 10%) y HWE ( $\chi^2 > 0.05$ ) (**consultar anexo, pág. 56**). En el análisis asociativo entre fenotipo y genotipo se encontró que solamente seis genes resultaron favorables ( $P < 0.05$ ) para un menor DA (**Cuadro 4**). Los genes identificados fueron: GHR, IGFBP2, PAPP1, SSTR2, SSTR3 y STAT5A.

**Cuadro 4.** Descubrimiento de SNP's relacionados con la variable reproductiva días abiertos.

<sup>1</sup> ID SNP	Gen	<sup>2</sup> Alelos	F. alélica%	Localización	Cromosoma	Valor de P	<sup>5</sup> FDR
rs41639262	GHR	G/A	.63/.37	5'UTR <sup>3</sup>	20	0.01	0.03
rs134705980	IGFBP2	C/A	.44/.56	5'UTR	2	0.02	0.03
rs379196319	PAPP1	C/A	.80/.20	Exón 1	8	0.05	0.05
rs207769413	SSTR2	C/T	.88/.12	3'UTR <sup>4</sup>	19	0.02	0.03
rs137314909	SSTR3	A/G	.61/.39	Exón 1	5	0.05	0.05
rs137182814	STAT5A	C/G	.57/.43	Exón 8	19	0.03	0.04

<sup>1</sup>ID SNP= Número de registro en el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología, <sup>2</sup>A= Adenina, T= Timina, C= Citosina, G= Guanina, <sup>3</sup>5'UTR= Región sin traducir, <sup>4</sup>3'UTR= Región sin traducir, <sup>5</sup>FDR= Tasa de falsos positivos.

El primer gen asociado a la variable DA fue GHR, el cual es una proteína transmembranal que se une a la GH con alta afinidad y especificidad, responsable de la respuesta celular a la misma. Mullen *et al.* (2010) indicaron que existen variantes del gen GH1 relacionadas con la producción de leche, fertilidad, y rasgos relacionados con el crecimiento del ganado; y este estudio sugiere que también tiene relación con los DA. Por su parte, Hull y Harvey (2001) indicaron que la GH1 está implicado en los procesos de diferenciación sexual y en la pubertad, asimismo participa en la esteroidogénesis gonadal, la gametogénesis y la ovulación. Por lo tanto, la GH1 es un importante modulador de la reproducción, sin embargo,

la función de la proteína GH no fuera posible si no existiera un receptor. En el presente estudio, el GHR se encuentra en una región no codificante 5'UTR. Se piensa que son regiones de gran importancia para la expresión genética cuando el ganado se encuentra bajo modificación ambiental. Jiang y Lucy (2001) indicaron que la expresión en el GHR bovino puede ser controlada por regiones UTR además de las regiones codificantes. Banos *et al.* (2008) indicaron que el polimorfismo F279Y del GHR tuvo efecto significativo en el consumo de alimento, conversión alimenticia, y rasgos de la energía corporal. Por lo tanto, esto puede explicar parcialmente el hecho que en nuestro estudio se haya encontrado una relación con el número de DA.

El gen IGFBP está asociado al IGF-1, ya que por medio de un sistema complejo regulado por seis proteínas regulan la biodisponibilidad del IGF-1. Como se comentó anteriormente, existe la posibilidad que las regiones preservadas o no codificantes se modifiquen debido a cambios en su ADN influenciados por el medio ambiente. El gen IGFBP2 tuvo una asociación significativa ( $P < 0.02$ ) con DA. Consuelo *et al.* (2005) indican que las distintas proteínas del IGFBP regulan la disponibilidad de IGF-1 a nivel de las células de la granulosa y teca. El IGFBP2 se encuentra asociado con la señalización de IGF-1 en folículos dominantes (Rivera *et al.*, 2003). Lo anterior sugiere que este gen es un candidato para incorporarlo en la selección reproductiva por su excelente relación con el desarrollo folicular del ganado. Considerando que la presencia de desarrollo folicular es un paso crucial para la secreción de estrógenos, y liberación y acción de la LH para el reinicio de la actividad reproductiva postparto, es de esperarse que el gen IGFBP2 tuviera una relación con los DA en ganado lechero.

El tercer gen es el PAPP1, y aunque existe poca información sobre su función en el organismo animal, se ha reportado otra variante del PAPP1 asociada a la fertilidad en

vaquillas de raza Romosinuano (Luna-Nevárez *et al.*, 2012). Se determinó que el gen PAPP2 es un predictor favorable en la reducción de la edad a primer parto. Wickramasinghe *et al.* (2011) demostraron que las variantes del gen PAPP-A2 (SNP13, SNP15 y SNP16) se asociaron significativamente a una mayor facilidad al parto de las hijas, vida productiva, producción de leche, producción de proteína en leche e indicaron que las variantes identificadas se pueden utilizar como marcador genético en programas de mejoramiento genético. Aad *et al.* (2006) mencionan que las proteínas del PAPP interactúan en el crecimiento y dominio folicular esto se debe a que son enzimas proteolíticas que actúan degradando las IGFBP, lo que aumenta la biodisponibilidad de IGF-I y -II durante el desarrollo folicular. Estos hallazgos nos hacen pensar que PAPP1, por pertenecer a la misma familia de genes, es un buen candidato para incluirlo en la selección de ganado.

Otro gen importante en este estudio es el STAT5A que fue localizado en el exón 8 del cromosoma 5. Esta variante del STAT5 ha sido relacionada con la supervivencia embrionaria. Khatib *et al.* (2008) identificaron al SNP12195 en el exón 8 y lo asociaron con una menor muerte embrionaria. En otro estudio realizado por Khatib *et al.* (2009) también encontraron una variante del STAT5A (SNP SNP153137; G/C), que fue asociado significativamente con la variabilidad en la tasa de supervivencia y la fecundación de embriones. Akers (2006) indica que el STAT5A está implicado específicamente en la estimulación del gen PRL. Sadeghi *et al.* (2007) encontraron una variación del gen bovino STAT5A localizado en el exón 7 asociado con la producción de leche, grasa y proteína. Khatib *et al.* (2009) encontraron asociaciones significativas entre los genes GHR, PRLR, STAT5A y UTMP para tasa de supervivencia y de POU1F1, GHR, STAT5A y OPN para tasa de fertilización. Por último, el gen receptor de la somastostatina 1 y 2 fue asociado significativamente a DA (SSTR2,  $P < 0.02$ ; SSTR3,  $P <$

0.05), sin embargo, estudios de expresión genética y funcionalidad para estos genes en el organismo animal son prácticamente nulos.

#### **4.4 Determinación de genotipos favorables para los SNP asociados a DA**

Debido a su naturaleza bialélica, cada locus dentro del genoma bovino tiene la posibilidad de presentar tres genotipos distintos (dos homocigotos y un heterocigoto). En el **Cuadro 5** se observa la comparación de medias de los genotipos para cada SNP y su clasificación de acuerdo al número de alelos favorables que conforman al genotipo. Primeramente el gen GHR y su SNP con registro rs41639262 se observa que el genotipo AA ( $94.91 \pm 3.74$  d) fue significativamente más favorable para menor DA ( $P < 0.05$ ) que los genotipos GA y GG, sin embargo, GG numéricamente tuvo menor DA que GA (107.19 vs 103.39 d). En el segundo gen IGF2BP2 y su SNP con registro rs134705980, se observa que el genotipo CC numéricamente es mejor que el CA (96.86 vs 102 d), sin embargo, estadísticamente son iguales ( $P > 0.05$ ), mientras que el genotipo AA registro mayor DA. De la misma manera, en el gen PAPP1 y su SNP con registro rs379196319, los genotipos AA y CA son estadísticamente iguales ( $P > 0.05$ ), pero diferentes al genotipo CC, numéricamente el genotipo AA es el que registro menor DA. El cuarto gen es SSTR2 y su SNP con registro rs207769413 presentó un genotipo CC que es estadística y numéricamente mejor que los genotipos CT y TT. Para el gen SSTR3 y su SNP con registro rs137314909, el genotipo AA fue estadísticamente igual ( $P > 0.05$ ) al genotipo GG pero numéricamente el AA es más favorable para menor DA, mientras que el genotipo AG es el que presento un mayor número DA. Finalmente, para el gen STAT5A y su SNP con registro rs137182814, de igual forma los genotipos homocigotos CC y GG fueron estadísticamente iguales pero diferentes al genotipo

heterocigoto CG, numéricamente el grupo de vacas que presentan el genotipo CC promedian menor DA.

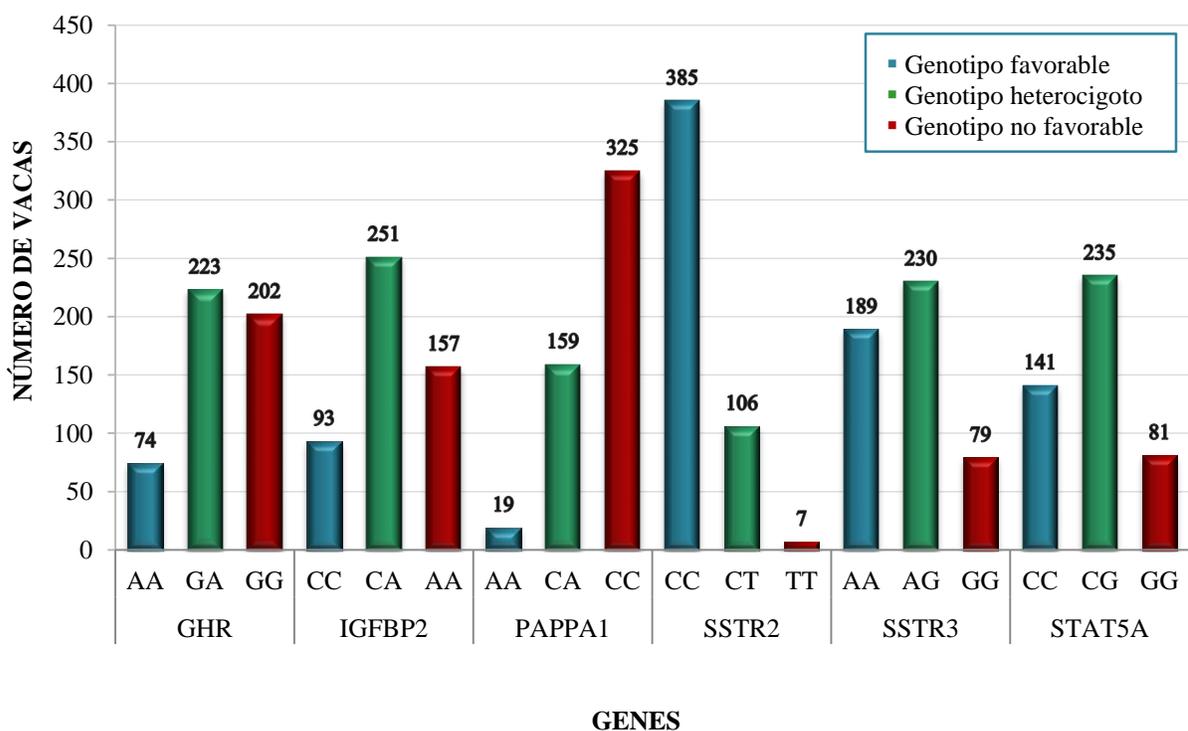
**Cuadro 5.** Comparación de medias para los genotipos de los SNP asociados a DA.

<sup>1</sup> ID SNP	Gen	<sup>2</sup> Genotipo		
		2	1	0
rs41639262	GHR	AA 94.91 ± 3.74 <sup>a</sup>	GA 107.19 ± 2.38 <sup>b</sup>	GG 103.39 ± 2.50 <sup>b</sup>
rs134705980	IGFBP2	CC 96.86 ± 3.46 <sup>a</sup>	CA 102.71 ± 2.25 <sup>a</sup>	AA 108.32 ± 2.62 <sup>b</sup>
rs379196319	PAPPA1	AA 94.96 ± 7.28 <sup>a</sup>	CA 100.11 ± 2.61 <sup>a</sup>	CC 106.32 ± 2.10 <sup>b</sup>
rs207769413	SSTR2	CC 101.62 ± 1.92 <sup>a</sup>	CT 111.71 ± 3.40 <sup>b</sup>	TT 113.39 ± 11.37 <sup>b</sup>
rs137314909	SSTR3	AA 100.68 ± 2.55 <sup>a</sup>	AG 107.47 ± 2.30 <sup>b</sup>	GG 101.90 ± 3.75 <sup>a</sup>
rs137182814	STAT5A	CC 101.33 ± 2.62 <sup>a</sup>	CG 109.84 ± 2.13 <sup>b</sup>	GG 102.44 ± 3.78 <sup>a</sup>

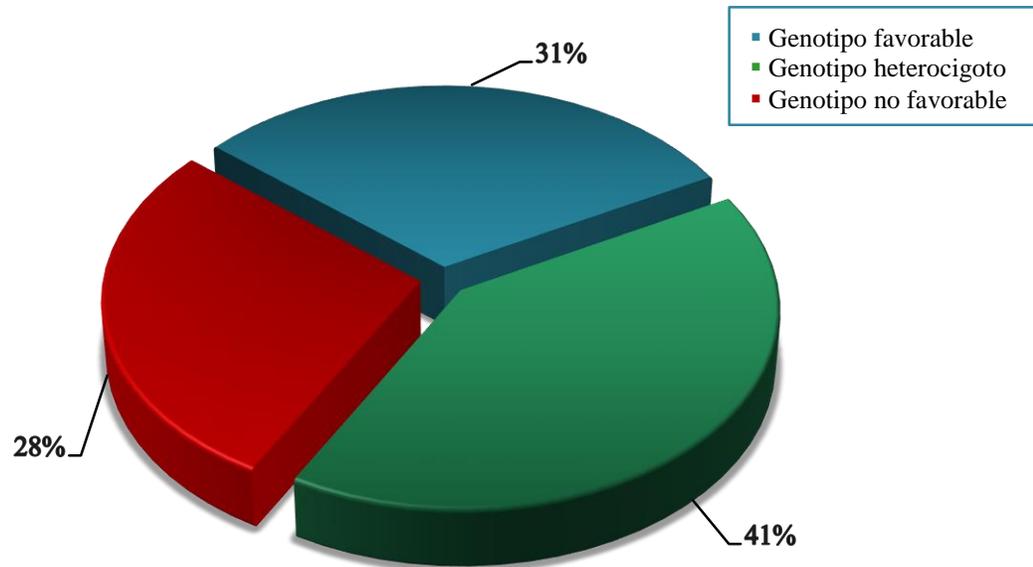
<sup>1</sup>ID SNP= Número de registro en el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología, <sup>2</sup>Genotipo= 0 (cero copias de alelo favorable), 1 (una copia de alelo favorable) y 2 (dos copias de alelo favorable), Comparación de medias de genotipos por SNP, su lectura por hilera de izquierda a derecha (ej. 2 vs 1, 2 vs 0, 1 vs 0), Diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

En la **Gráfica 3** se puede observar el número de vacas de acuerdo al genotipo favorable de cada SNP relacionado con DA mencionado en el **Cuadro 5**. Primeramente, para el SNP GHR, el porcentaje de vacas que portan el genotipo favorable AA es 15 %, mientras que los genotipos GA y GG se encuentran en el 45 y 40 % de las vacas. En el segundo SNP, IGFBP2, el porcentaje de vacas que portan el genotipo favorable CC es 19 %, mientras que el 50 % son heterocigotos (CA) y 31 % son homocigoto (AA). De igual forma, el genotipo favorable AA del SNP PAPPA se encuentra en el 4 % de las vacas, mientras que CA en el 0.32 % y el CC en el 64 %. Para el SNP SSTR2, el genotipo favorable CC se presentó en el

77 % de las vacas, el heterocigoto CT en el 21% y el homocigoto TT en el 2 %. Para el SNP SSTR3 el genotipo favorable se presentó en el 38 % de las vacas, el AG en el 46 % y GG en el 16 %. Para finalizar, en SNP STAT5A el genotipo favorable CC se presentó en el 31 %, el genotipo heterocigoto en el 51 % y el homocigoto GG en el 18 %. Sin duda alguna conocer la distribución de vacas de acuerdo al genotipo favorable nos da una idea de la distribución genotípica dentro de una población. En la **Gráfica 4** se puede observar que el 31% de la población tiene en su ADN el genotipo favorable para los seis SNP, mientras que el 28% tiene el genotipo no favorable y el 41% es heterocigoto.



**Gráfica 3.** Relación de la frecuencia del genotipo del SNP con número de vacas.



**Gráfica 4.** Porcentaje de vacas con el genotipo favorable, heterocigoto y genotipo no favorable para los seis SNP.

Banos *et al.* (2008) identificaron el SNP F279Y del GHR, variante distinta encontrada en el presente estudio. Reportaron que el genotipo TT influyó en la ingesta de alimento y conversión alimenticia. Identificaron que 63 % de las vacas Holstein portaban el genotipo TT mientras que el 34 % era heterocigoto y el 3 % era homocigoto para el genotipo AA. Wickramasinghe *et al.* (2011) indicaron que las variantes del PAPP2 (SNP13, SNP16 y SNP16) sus homocigotos TT, TT, y GG incrementaban los valores fenotípicos como tasa de preñes de las hijas, vida productiva, producción de leche, producción de proteína y facilidad al parto. Luna-Nevárez *et al.* (2012) asociaron la fertilidad de vaquillas Romosinuano con nueve genes asociados al eje GH-IGF. Determinaron que PAPP2 y su SNP rs110490898 con genotipo TT, la edad al primer parto es más rápida en comparación con genotipos CT y CC (734.3 vs 752.3 vs 791.2) respectivamente. Determinaron que los genotipos TT y CT para la edad a segundo parto son estadísticamente iguales pero diferentes al CC, sin embargo, el genotipo TT es numéricamente mejor. Determinaron la frecuencia del genotipo y encontraron

que 68 % de la población es homocigoto CC, el 30 % heterocigoto y 2 % homocigoto TT. Para finalizar, Khatib *et al.* (2008) estudiaron una variante el STAT5A (SNP3117) y determinaron que la tasa de supervivencia embrionaria las hijas de los toros estaba más relacionada con el genotipo GG en comparación en el AG y AA (46%, 21% y 28 %) respectivamente.

#### 4.5 Efecto de los SNP

El efecto de sustituir un alelo por otro nos indica la aportación individual de un alelo dentro de un genotipo. El efecto aditivo es la aportación del alelo dentro de un gen que le fue heredado a la progenie (**Cuadro 6**). Partiendo del promedio de 102 d registrado en la población, si una vaca contiene sólo un alelo A en el genotipo del gen GHR, ésta tendrá en promedio 2.10 DA menos que aquellas vacas que no lo contengan, esto quiere decir que dicha función aditiva se verá reflejado en el fenotipo del ganado, de igual manera para los genes IGFBP2 (C,  $-5.71 \pm 1.97$  DA), PAPP1 (A,  $-6.01 \pm 2.48$  DA), SSTR2 (C,  $-9.07 \pm 3.20$  DA), SSTR3 (A,  $-2.06 \pm 2.02$  DA), STAT5A (C,  $-2.17 \pm 2.08$  DA).

**Cuadro 6.** Análisis de substitución alélica para el genotipo favorable de los 6 genes polimórficos relacionados con DA.

<sup>1</sup> ID SNP	Gen	Alelo favorable	<sup>2</sup> Efecto lineal $\pm$ EE
rs41639262	GHR	A	$-2.10 \pm 2.00$
rs134705980	IGFBP2	C	$-5.71 \pm 1.97$
rs379196319	PAPP1	A	$-6.01 \pm 2.48$
rs207769413	SSTR2	C	$-9.07 \pm 3.20$
rs137314909	SSTR3	A	$-2.06 \pm 2.02$
rs137182814	STAT5A	C	$-2.17 \pm 2.08$

<sup>1</sup>ID SNP= Número de registro en el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología, <sup>2</sup>Efecto lineal=Valor alélico, Significancia estadística ( $P < 0.05$ )

Banos *et al.* (2008) identificaron el SNP F279Y del GHR e indicaron que cuando el alelo T se presenta en el genotipo, la ingesta de alimento promedia 1.72 kg, como también

relacionaron al alelo T en la conversión alimenticia a leche elevando 0.14 kg de leche sobre aquellas vacas que no presentan el alelo. Luna-Nevárez *et al.* (2012) asociaron el alelo T del PAPP2 (SNP rs110490898) con la edad a primer parto, indicaron que la presencia del alelo reduce los días al primer parto ( $-37.1 \pm 14.4$  d), como también reduce los días al segundo parto ( $-65 \pm 30.8$  d).

#### 4.6 Modelos y correlación

Entonces como se ha comentado anteriormente el MBV representa el EBV de una vaca tomando en cuenta el efecto aditivo de los genes. Por lo tanto, se puede observar (**Cuadro 7**) que la media del MBV para DA solamente calculado con seis SNP's fue de 28.88 d, con un máximo de 50 d.

**Cuadro 7.** Descripción de media aritmética para el MBV.

Variable	n	Media	EE	Mínimo	Máximo
MBV	428	28.85	0.335	7.52	50.4

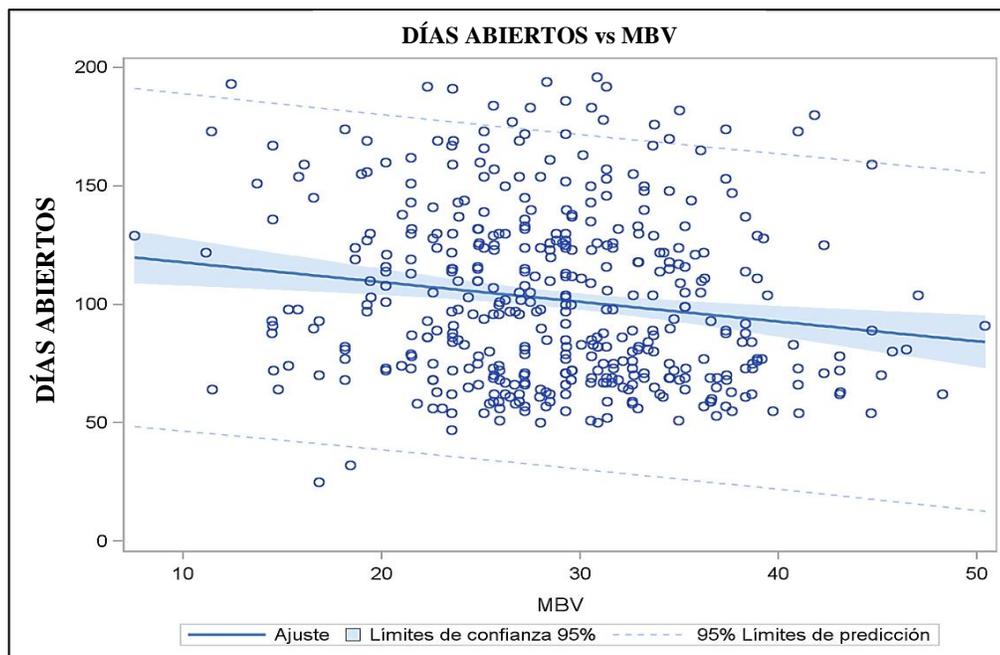
En el **Cuadro 8** se observa la correlación entre DA y MBV, como también la relación de DA y MBV con distintas variables. Primeramente, la correlación entre MBV y DA fue débil pero altamente significativa ( $r = -0.15$ ,  $P < .0001$ ). Se puede observar que PLT y DL se correlacionaron positivamente con DA ( $r = 0.23$  y  $r = 0.50$ ;  $P < .05$ ). Se observa una correlación casi perfecta entre IEP y DA ( $r = 0.99$ ,  $P < .05$ ). Por otra parte, SC se correlaciona con DA ( $r = 0.70$ ,  $P < .05$ ).

**Cuadro 8.** Correlación entre DA y MBV y otras variables relacionadas con el rendimiento reproductivo de vacas Holstein manejadas bajo el clima cálido del sur de Sonora, México.

Variables	PLA305	PLT	DL	NL	DA	MBV	IEP	SC
PLA305	1	0.90**	0.21**	0.40**	-0.00	0.07	-0.00	-0.04
PLT		1	0.60**	0.35**	0.23**	0.06	0.23**	0.14*
DL			1	0.06	0.50**	-0.04	0.49**	0.37**
NL				1	-0.00	0.09***	-0.00	-0.02
DA					1	-0.15*	0.99**	0.70**
MBV						1	-0.15*	-0.10*
IEP							1	0.70**
SC								1

PLA305=Producción de leche ajustada a 305 días, PLT= Producción de leche total, DL=Días en leche, NL= Número de lactancia, DA= Días abiertos, IEP= Intervalos entre partos, SC= Servicios por concepción. \* $P < .0001$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.10$ .

En el modelo reducido que tomó en cuenta a MBV y DA, encontramos que el poder explicativo es lineal pero muy reducido con una  $R^2$  de 2.5% y un bajo estimador de DA ( $-0.83 \pm 0.25$ ;  $P < 0.001$ ) (Gráfica 5). Cuando se ingresaron factores ambientales incluyendo el MBV, la  $R^2$  aumento a 63%, con interacción significativa ( $P < 0.0262$ ) entre MBV, NL y hato.



**Gráfica 5.** Gráfico de dispersión entre DA y MBV.

## Discusión.

De acuerdo a los datos presentados en el **Cuadro 7** es prácticamente imposible que una vaca presente 7 DA para quedar gestante. Es decir, primeramente se debe de cumplir el proceso de involución uterina para que una vaca sea apta para una nueva gestación. Se piensa que valores de MBV tan bajos pueda deberse al bajo número de SNP's, es decir, pueden existir más SNP's que influyen de manera significativa en DA. Habier *et al.* (2007) y Hayes *et al.* (2009) hacen referencia que la precisión de los valores genómicos están altamente relacionados con el número de marcadores, registros y la exactitud de desequilibrio ligado de los parientes. El estudio del MBV a partir de MAS es prácticamente una novedad, por lo que existe una gran necesidad de generar trabajos relacionados con la reproducción y producción para tener una posibilidad de comparación de resultados.

En cuanto a la correlación entre MBV y DA son prácticamente nulas. Sin embargo existen trabajos entre MBV y caracteres de interés. Montañó *et al.* (2014) utilizaron un micro arreglo con 16 SNP's para 197 toro productores de carne y reportaron correlaciones bajas entre características de crecimiento y sus MBV. Indicaron que 16 SNP's es un número limitado en características complejas por lo cual se ve reflejado en una baja predicción del MBV. Por lo tanto, se piensa que la baja correlación entre DA y MBV del presente estudio pudo deberse al bajo número de SNP's y el tamaño de muestra. En cuanto a la corrección que existe entre DA y las variables productivas como PLT y DL, Hansen (2000) indicó que existe correlación negativa entre producción de leche, fertilidad y enfermedades. Lucy (2001) menciona que el IEP y SC su rango aumento entre los años 1980 al 2000 a 46 d y 1.5 IC respectivamente, debido al incremento de la producción de leche. Pritchard *et al.* (2013) encontraron una correlación entre IEP y PLA305 ( $r= 0.20, P < 0.005$ ) y una correlación entre SC y PLA305 ( $r= 0.13, P < 0.003$ ).

El resultado obtenido en el presente trabajo con respecto a la  $R^2$  del modelo reducido fue sumamente bajo sin embargo, se logró explicar una pequeña variación entre MBV y DA. Akanno *et al.* (2014) estudiaron la confiabilidad del MBV utilizando un panel de 374 genes de una población conformada por vaquillas y novillos (n=802). Se analizó el área Ribe eye y la fuerza de corte Warner-Bratzler con 375 SNP significativos favorables. Se determinó que la MBV explicaba en 11% de lo que sucedió en el área Ribe eye (Marmoleo, dureza, etc.), mientras que el MBV para la fuerza de corte Warner-Bratzler (fuerza de corte, tiempo etc.) explicaba el 38%. Los resultados obtenidos en el presente trabajo con respecto a la  $R^2$  difieren con los obtenidos por Akanno *et al.* (2014), lo que puede deberse a que el panel de genes fue muy reducido (n=179), la variable medida etc.

Para concluir, Cochran *et al.* (2013) propusieron un panel de 434 SNP candidatos para la reproducción utilizando la plataforma Sequenom MassArray obtuvieron un total de 40 SNP asociados con tasas de preñez para vaquillas y vacas. Estos mismos autores propusieron que una posible manera de aumentar la precisión de las predicciones genéticas para características de fertilidad implica tener paneles con mayor número genes que permitan la identificación más precisa SNP's relacionados con la reproducción. Por lo tanto, es importante aumentar el número de SNP en el panel estudiado como también aumentar el número de animales y registros reproductivos para elevar el poder predictivo del MBV.

#### **4.5 Parámetros de heredabilidad**

Se dividió la varianza genética aditiva entre la varianza fenotípica para saber qué tanto influye el efecto aditivo de los genes con el fenotipo reproductivo (**Cuadro 9**). La heredabilidad estimada en sentido amplio ( $h_B^2$ ) fue de 0.16 y la heredabilidad estimada en sentido estricto ( $h^2$ ) tuvo prácticamente el mismo valor.

**Cuadro 9.** Heredabilidad de DA en vacas Holstein del sur de Sonora.

<b>Variable</b>	<b><sup>1</sup>Heredabilidad en sentido amplio</b>	<b><sup>2</sup>Heredabilidad en sentido estricto</b>
Días abiertos	0.1589 ± 0.1199	0.1606 ± 0.1185

<sup>1</sup>Calculo sin efecto aditivo de los genes, <sup>2</sup>Calculo tomando en cuenta el efecto aditivo de los genes (MBV).

La heredabilidad reproductiva es de suma importancia, sin embargo, históricamente el rango de variación total encontrada debido a la genética es del .02 al .10 %. Van Raden *et al*, (2004) indicaron que el rango de heredabilidad para DA es del 4 a 6 %. En el presente estudio para ambos criterios de heredabilidad ( $h^2$  y  $h_B^2$ ) la variación total debido a los genes difieren a lo reportado por Van Raden *et al*, (2004) y esto puede deberse a distintos factores como: al lugar de estudio, el número de animales, cantidad de registros individuales y de parientes, la pureza del ganado, edad, número de partos, etc. En cuanto al número de partos en un estudio realizado con ganado de carne, Goyache *et al*. (2005) indicaron que la heredabilidad en DA disminuye cada vez que el número de partos aumenta. Por lo tanto, son múltiples los factores que hacen que exista variabilidad en la heredabilidad reproductiva.

## 5. CONCLUSIONES

Se identificaron seis polimorfismos de los genes **GHR**, **IGFBP2**, **PAPPA1**, **SSTR2**, **SSTR3**, **STAT5A** que pueden ser tomados en cuenta para futuros trabajos relacionados con días abiertos.

El MBV predijo una pequeña variación de días abiertos en vacas Holstein manejadas bajo condiciones cálidas, sin embargo, se considera que si se aumenta el número de registros por animal y número de SNP's, el MBV puede ser más preciso.

La heredabilidad en ambos criterios (amplio y estricto) fue prácticamente el mismo valor, sin embargo, se considera que la variación total de días abiertos explicados por la genética puede ser más favorable y confiable con la identificación un mayor número de genes con efecto aditivo (SNP).

Se recomienda para futuros estudios el uso de un mayor número de SNP's, así como un mayor número de vacas, de registros individuales y de pedigrí. También se recomienda planificar estrategias de muestreo que identifiquen más genes relacionados con la resistencia al estrés calórico. Por lo anterior, se concluye que los seis genes identificados permitieron estimar una pequeña proporción de la variabilidad de días abiertos, a través del cálculo de su MBV, sin embargo, estas predicciones aun no pueden ser utilizadas en el campo debido a su baja precisión.

## ANEXO

**Cuadro 10.** Frecuencias alélicas y genotípicas para los 179 genes en estudio.

ID SNP	Gen	Alelos	F. Alélica%	F. Genotípica%			$\chi^2$
		2/0	2/0	2	1	0	
rs467297442	AVP	A/G	0.16/0.84	0.03	0.27	0.71	0.920
NR	AVP*	C/T	0.25/0.75	0.04	0.41	0.54	0.042
rs469243577	AVP*	T/C	0.20/0.80	.	0.41	0.59	0.000
rs207971189	AVPR1A	C/G	0.66/0.34	0.44	0.44	0.12	0.531
rs210011420	AVPR1A	T/C	0.60/0.40	0.38	0.45	0.17	0.194
rs209300854	AVPR1A	C/G	0.61/0.39	0.38	0.46	0.16	0.404
rs209463645	CISH*	G/A	0.42/0.58	0	0.83	0.17	0.000
rs208019931	CISH	C/G	0.81/0.19	0.65	0.32	0.03	0.183
rs382538054	Furin	G/A	0.77/0.23	0.58	0.37	0.05	0.493
rs134721854	Furin*	C/T	0.14/0.86	0	0.27	0.73	0.002
rs210731409	Furin*	C/T	0.99/0.00	0.99	0.01	.	0.891
rs466130569	Furin*	G/T	0.99/0.01	0.97	0.03	.	0.747
rs463846971	Furin*	G/T	0.94/0.06	0.89	0.11	0	0.581
rs381099643	Furin	G/A	0.85/0.15	0.71	0.28	0.01	0.064
rs41639262	GHR	G/A	0.63/0.37	0.40	0.45	0.15	0.380
rs133786352	GHRH*	C/T	0.95/0.05	0.91	0.09	0	0.880
rs109663333	GHRH	A/T	0.63/0.37	0.39	0.48	0.13	0.642
rs109912355	GHRH	G/A	0.36/0.64	0.14	0.42	0.43	0.078
rs109981400	GHRH*	G/T	0.79/0.21	0.64	0.30	0.06	0.028
rs380969504	GHRH*	G/A	0.95/0.05	0.91	0.09	0	0.885
rs137760387	GHRH*	C/A	0.96/0.04	0.92	0.08	0	0.825
rs43407600	GHRHR	A/G	0.17/0.83	0.03	0.28	0.69	0.724
rs465206110	GHRHR*	A/G	0.00/0.99	.	0	1	0.964
rs210921858	GHSR*	T/C	0.04/0.96	0	0.07	0.93	0.609
rs110476783	GHSR*	C/A	0.96/0.04	0.92	0.08	0	0.812
rs133986528	GHSR*	G/A	0.04/0.96	0	0.07	0.93	0.726
rs481253740	GHSR*	G/T	0.04/0.96	0	0.07	0.93	0.114
rs385048010	GHSR*	G/A	0.99/0.00	0.99	0.01	.	0.928
rs110721203	GHSR*	T/C	0.96/0.04	0.92	0.08	0	0.926
rs110950555	GHSR	C/A	0.14/0.86	0.02	0.23	0.75	0.595
NR	GHSR*	A/A	1	1	.	.	.
rs109763947	IGF1	C/T	0.39/0.61	0.16	0.46	0.38	0.431
rs137289661	IGF2	T/C	0.24/0.76	0.06	0.35	0.59	0.405
rs380909637	IGF1R	G/A	0.13/0.87	0.76	0.23	0.02	0.913
rs41961338	IGF1R	A/G	0.41/0.59	0.17	0.49	0.34	0.927
rs133310242	IGF1R*	G/A	0.91/0.09	0.84	0.15	0.01	0.455
rs210778604	IGF1R	C/T	0.72/0.28	0.53	0.38	0.10	0.094
rs211549206	IGF1R	G/A	0.67/0.33	0.48	0.38	0.14	0.068

rs41640706	IGF1R*	G/A	0.95/0.05	0.90	0.10	.	0.254
rs110343126	IGF1R	A/G	0.54/0.46	0.30	0.48	0.22	0.473
rs470246390	IGF1R*	G/A	0.99/0.01	0.97	0.03	.	0.752
rs208140993	IGF1R	C/T	0.48/0.52	0.23	0.50	0.27	0.986
rs41960582	IGF1R	T/C	0.31/0.69	0.09	0.44	0.47	0.619
rs109762729	IGF1R	G/T	0.30/0.70	0.08	0.44	0.48	0.323
rs134739850	IGFBP2	A/G	0.11/0.89	0.02	0.18	0.80	0.132
rs110305498	IGFBP2	C/T	0.11/0.89	0.02	0.18	0.80	0.273
rs134705980	IGFBP2	C/A	0.44/0.56	0.19	0.50	0.31	0.720
rs209576314	IGFBP2	G/C	0.82/0.18	0.67	0.30	0.03	0.935
rs443442023	IGFBP2	G/A	0.83/0.17	0.69	0.28	0.03	0.704
rs17870204	IGFBP3*	G/T	0.58/0.42	0.36	0.44	0.20	0.021
rs17870212	IGFBP3	C/T	0.40/0.60	0.18	0.44	0.38	0.072
rs378389402	IGFBP4*	G/T	0.06/0.94	0.00	0.12	0.87	0.943
NR	IGFBP5*	G/A	.	.	.	.	.
rs135457390	IGFBP5	C/G	0.89/0.11	0.80	0.19	0.01	0.198
rs208989155	IGFBP5	A/G	0.21/0.79	0.04	0.35	0.61	0.265
NR	IGFBP5*	C/T	0.89/0.11	0.80	0.18	0.02	0.506
rs110668467	IGFBP5	C/G	0.89/0.11	0.79	0.19	0.02	0.455
rs211039223	IGFBP6	C/T	0.90/0.10	0.80	0.19	0.00	0.278
rs135291157	IGFBP6*	G/A	0.05/0.95	0.00	0.08	0.92	0.027
NR	IGFBP6*	C/C	1	.	.	.	.
rs43477917	IGFBP7	C/A	0.72/0.28	0.51	0.41	0.08	0.710
rs208148962	IGFBP7	T/C	0.79/0.21	0.62	0.34	0.04	0.734
rs449568329	IGFBP7*	A/G	0.05/0.95	0.00	0.10	0.90	0.583
rs43477922	IGFBP7*	C/T	0.07/0.93	0.00	0.14	0.86	0.852
rs43477925	IGFBP7*	C/A	0.99/0.00	0.99	0.01	.	0.946
rs454266321	IGFBP7*	C/T	0.05/0.95	0.01	0.07	0.92	0.000
rs443140594	IGFBP7*	C/A	0.06/0.94	0.01	0.10	0.89	0.006
rs43469649	IGFBP7*	T/C	0.02/0.98	0.00	0.04	0.96	0.171
rs43477915	IGFBP7	A/G	0.23/0.77	0.06	0.34	0.60	0.384
rs135620444	OXT*	T/T	1	.	.	.	.
rs137154444	OXT*	G/A	0.12/0.88	0.06	0.12	0.82	0.000
rs137388314	OXT*	T/C	0.80/0.20	0.78	0.05	0.17	0.000
rs42002643	OXTR	G/A	0.49/0.51	0.24	0.50	0.26	0.954
rs42002659	OXTR*	C/A	0.37/0.63	0.18	0.38	0.44	0.000
rs42002660	OXTR*	C/T	0.93/0.07	0.90	0.06	0.04	0.000
rs379196319	PAPPA1	C/A	0.80/0.20	0.64	0.32	0.04	1.000
rs384230354	PAPPA1	G/A	0.72/0.28	0.52	0.40	0.08	0.911
rs209859180	PAPPA1*	A/G	0.29/0.71	0.28	0.02	0.70	0.000
rs109779265	PAPPA2	C/A	0.67/0.33	0.43	0.48	0.09	0.063
rs109952914	PAPPA2	T/A	0.83/0.17	0.69	0.27	0.04	0.170
rs42301978	PAPPA2*	C/A	0.99/0.08	0.84	0.16	0.00	0.162

rs42301985	PAPPA2*	A/G	0.05/0.95	0.00	0.10	0.90	0.585
rs42300479	PAPPA2*	C/T	0.49/0.51	0.03	0.93	0.04	0.000
rs109706337	PAPPA2*	C/T	0.03/0.98	.	0.05	0.95	0.568
NR	PAPPA2*	G/G	1	.	.	.	.
rs41688130	PCSK2	G/A	0.72/0.28	0.52	0.41	0.07	0.510
rs137423265	PCSK2	G/T	0.66/0.34	0.45	0.42	0.13	0.090
rs41685759	PCSK2*	G/A	0.82/0.18	0.82	0.00	0.18	0.000
rs385447261	PIAS1*	.	.	.	.	.	.
rs383631454	PIAS1	C/A	0.16/0.84	0.02	0.28	0.70	0.600
rs137166453	PIAS1*	G/A	0.46/0.54	0.31	0.46	0.23	0.041
rs14197280	PMCH	T/A	0.48/0.52	0.23	0.51	0.27	0.699
rs110586822	PRL	A/G	0.86/0.14	0.74	0.25	0.01	0.333
rs211032652	PRL*	G/A	0.80/0.20	0.73	0.14	0.13	0.000
rs110494133	PRL	G/A	0.31/0.69	0.09	0.44	0.47	0.310
rs110904118	PRL*	C/T	0.12/0.88	0.05	0.14	0.81	0.000
rs134028641	PRL*	C/T	0.99/0.01	0.98	0.02	.	0.840
rs209364409	PRLR*	G/A	0.96/0.04	0.92	0.08	0.00	0.817
rs109428015	PRLR*	C/T	0.95/0.05	0.91	0.09	0.00	0.398
rs135164815	PRLR	A/G	0.74/0.26	0.57	0.36	0.07	0.109
rs136247583	PRLR	C/T	0.74/0.26	0.57	0.36	0.07	0.139
rs43158737	PRLR*	G/G	1	.	.	.	.
rs385034220	SCG5*	C/T	0.99/0.00	0.99	0.00	.	0.964
rs109962791	SCG5	A/G	0.45/0.55	0.20	0.50	0.30	0.998
rs109273675	SCG5	G/A	0.36/0.64	0.13	0.45	0.42	0.607
rs383043882	SOCS1*	A/G	0.02/0.98	.	0.04	0.96	0.663
rs210216882	SOCS1	T/C	0.60/0.40	0.33	0.52	0.15	0.124
rs441084041	SOCS1*	G/A	0.02/0.98	.	0.05	0.95	0.581
rs109183195	SOCS1*	G/T	0.18/0.82	0.06	0.24	0.70	0.004
rs136895314	SOCS2*	T/C	0.50/0.50	0.27	0.45	0.23	0.029
rs109409520	SOCS2	A/G	0.17/0.83	0.04	0.26	0.70	0.056
rs132661440	SOCS2*	C/T	0.99/0.01	0.98	0.02	.	0.786
rs137463248	SOCS2*	C/C	1	.	.	.	.
rs136382760	SOCS2*	C/T	0.99/0.01	0.98	0.03	.	0.785
rs458247445	SOCS3*	A/G	0.13/0.87	.	0.27	0.73	0.001
NR	SOCS3*	T/C	0.18/0.82	0.08	0.20	0.72	0.000
NR	SOCS4*	C/G	0.00/0.99	.	0.00	0.99	0.955
rs109702177	SOCS4	G/A	0.63/0.37	0.39	0.48	0.13	0.464
rs456481871	SOCS4*	A/G	0.04/0.96	.	0.07	0.93	0.415
rs210573908	SOCS5	G/A	0.65/0.35	0.42	0.46	0.12	0.933
rs109979250	SOCS6*	G/A	0.51/0.49	0.29	0.45	0.26	0.044
rs381761783	SOCS6	G/A	0.79/0.21	0.63	0.32	0.05	0.330
rs110213772	SOCS6	T/C	0.35/0.65	0.11	0.48	0.41	0.161
rs480561519	SOCS7	G/A	0.89/0.11	0.79	0.20	0.01	0.707

rs110136164	SOCS7	G/A	0.36/0.64	0.12	0.47	0.41	0.591
rs211359837	SOCS7*	C/A	0.54/0.46	0.26	0.56	0.18	0.008
NR	SOCS7*	A/A	1	.	.	.	.
NR	SOCS7*	T/T	1	.	.	.	.
rs209926244	SOCS7*	C/T	0.40/0.60	0.19	0.42	0.39	0.004
rs109563188	SOCS7*	G/T	0.40/0.60	0.11	0.57	0.32	0.000
rs17870997	SST	G/A	0.67/0.33	0.45	0.44	0.11	0.945
rs472257957	SST*	C/T	0.99/0.01	0.97	0.03	.	0.751
rs110053675	SSTR2*	C/T	0.10/0.90	0.07	0.07	0.86	0.000
rs110602382	SSTR2	G/A	0.60/0.40	0.35	0.50	0.15	0.201
rs137754010	SSTR2*	C/T	0.08/0.92	0.01	0.15	0.84	0.747
rs207769413	SSTR2	C/T	0.88/0.12	0.77	0.21	0.02	1.000
rs381275188	SSTR2*	T/C	0.99/0.00	0.99	0.01	.	0.928
rs466764839	SSTR3*	C/T	0.95/0.05	0.91	0.08	0.00	0.961
rs137314909	SSTR3	A/G	0.61/0.39	0.38	0.46	0.16	0.520
rs109318052	SSTR3*	T/C	0.70/0.30	0.48	0.45	0.07	0.034
rs136447809	SSTR3*	G/C	0.29/0.71	0.08	0.44	0.48	0.029
rs43438660	SSTR3	C/G	0.70/0.30	0.50	0.40	0.10	0.255
rs43438659	SSTR3	T/A	0.71/0.30	0.51	0.39	0.10	0.189
rs109931679	SSTR3*	G/A	0.17/0.83	0.04	0.25	0.71	0.033
rs383554671	SSTR5*	T/C	0.09/0.91	0.01	0.15	0.84	0.398
rs132901966	SSTR5*	T/C	0.06/0.94	0.01	0.12	0.87	0.491
rs109914110	SSTR5	C/T	0.90/0.10	0.82	0.17	0.01	0.214
NR	STAT1*	C/C	1	.	.	.	.
rs209274978	STAT1	G/A	0.56/0.44	0.31	0.50	0.19	0.918
rs471883369	STAT1*	T/C	0.00/0.99	.	0.02	0.98	0.839
rs134291403	STAT1	G/A	0.44/0.56	0.20	0.50	0.30	0.918
rs43706906	STAT1	C/G	0.56/0.44	0.30	0.51	0.19	0.604
rs134129900	STAT1	G/A	0.56/0.44	0.31	0.50	0.19	0.739
NR	STAT1*	A/G	0.75/0.25	0.57	0.36	0.07	0.000
rs137587098	STAT3*	C/T	0.40/0.60	0.36	0.07	0.57	0.000
rs110942700	STAT3	G/A	0.49/0.51	0.27	0.50	0.23	0.942
rs134874928	STAT4	T/C	0.20/0.80	0.03	0.33	0.64	0.244
rs385524813	STAT4*	C/A	0.99/0.01	0.99	0.01	.	0.910
rs110153328	STAT4*	T/T	1	.	.	.	.
rs110344022	STAT4	T/C	0.67/0.33	0.44	0.45	0.11	0.545
rs110893400	STAT4	G/A	0.54/0.46	0.29	0.50	0.21	0.861
NR	STAT4*	T/T	1	.	.	.	.
rs384033065	STAT4*	A/G	0.05/0.95	0.00	0.10	0.90	0.550
rs109845537	STAT4	C/G	0.52/0.48	0.27	0.50	0.23	0.974
rs209426968	STAT4*	C/T	0.55/0.45	0.26	0.59	0.15	0.000
rs137182814	STAT5A	C/G	0.57/0.43	0.31	0.51	0.18	0.340
rs379638945	STAT5A*	T/C	0.04/0.96	0.00	0.07	0.93	0.530

NR	STAT5B*	A/A	1	.	.	.	.
rs134393319	STAT5B*	G/A	0.91/0.09	0.81	0.19	.	0.000
rs132929933	STAT5B*	C/T	0.95/0.05	0.91	0.09	0.00	0.439
rs441151034	STAT5B*	G/T	0.63/0.37	0.33	0.58	0.09	0.000
rs384930401	STAT5B	G/A	0.84/0.16	0.71	0.26	0.03	0.880
rs43706496	STAT5B	C/T	0.44/0.56	0.20	0.49	0.31	1
rs41915659	STAT5B	C/T	0.44/0.56	0.20	0.49	0.31	1
rs109171041	STAT6*	C/G	0.64/0.36	0.44	0.40	0.16	0.000
rs110335864	STAT6	C/A	0.88/0.12	0.01	0.22	0.77	0.480
rs109238562	STAT6	C/T	0.14/0.86	0.02	0.24	0.74	0.810
rs110097583	STAT6	G/A	0.83/0.17	0.69	0.29	0.02	0.310
rs109821685	STAT6	C/A	0.86/0.14	0.74	0.24	0.02	0.720

<sup>1</sup>ID SNP= Número de registro en el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología, \*Genes eliminados por no cumplir la frecuencia del alelo menor (MAF > 10%) o equilibrio Hardy-Weinberg (chisq < 0.05). NR=Genes no registrados y eliminados.

## LITERATURA CITADA

- Aad, P. Y., J. L. Vogee., A. S. Consuelo., J. R. Malayer, and L. J. Spicer. 2006. Real-time RT-PCR quantification of pregnancy-associated plasma protein-A mRNA abundance in bovine granulosa and theca cells: Effects of hormones in vitro. *Domest. Anim. Endocrin.* 31: 357–372.
- Aguilar, I., I. Misztal., S. Tsuruta., G. R. Wiggans, and T. J. Lawlor. 2011. Multiple trait genomic evaluation of conception rate in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 94: 2621–2624.
- Akanno, E. C., G. Plastow., B. W. Woodward., S. Bauck., H. Okut., X-L. Wu., C. Sun, and Z. Wang. 2014. Reliability of molecular breeding values for Warner-Bratzler shear force and carcass traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92: 2896-2904.
- Akers, R. M. 2006. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 1222–1234.
- Arias, R. A., T. L. Mader, and P. C. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.* 40: 7-22.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77: 2044–2050.
- Avendaño-Reyes, L., F. D. Álvarez-Valenzuela., A. Correa-Calderón., J. S. Saucedo-Quintero., F. Rivera-Acuña., F. J. Verdugo-Záratea., C. F. Aréchiga-Flores, and P. H. Robinson. 2007. Evaluación de un sistema de enfriamiento aplicado en el periodo seco de ganado lechero durante el verano. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 45: 189-203.
- Balding, D. J. 2006. A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nat. Genet.* 7: 781–791.

- Banos, G., J. A. Woolliams., B. W. Woodward., A. B. Forbes, and M. P. Coffey. 2008. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 3190–3200.
- Blott, S., J. J. Kim., S. Moio., A. Schmidt-Küntzel., A. Cornet., P. Berzi., N. Cambiaso., C. Ford., B. Grisart., D. Johnson., L. Karim., P. Simon., R. Snell., R. Spelman., J. Wong., J. Vilkki., M. Georges., F. Farnir, and W. Coppieters. 2003. Molecular dissection of a quantitative trait locus: A phenylalanine-to-tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and composition. *Genetics.* 163:253–266.
- Bohmanova, J., I. Misztal, and J. B. Cole. 2007. Temperature-Humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947–1956.
- Boonkum, W., I. Misztal., M. Duangjinda., V. Pattarajinda., S. Tumwasorn, and S. Buaban. 2011. Short communication: genetic effects of heat stress on days open for Thai Holstein crossbreds. *J. Dairy Sci.* 94: 1592–1596.
- Bourdon, R. M. 2000. *Understanding animal breeding.* 2<sup>nd</sup>. Ed. Upper Saddle River, New Jersey.
- Cammack, K. M., M. G. Thomas, and R. M. Enns. 2009. Review: reproductive traits and their heritabilities in beef cattle. *Prof. Anim. Sci.* 25: 517–528.
- Campbell, N. A, and J. B. Reece. 2007. *Biología.* (7<sup>a</sup>. ed). México: Editorial Medica Panamericana.
- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel., P. M. Fricke., M. C. Wiltbank., M. J. Florent., N. B. Cook., K. V. Nordlund., N. R. Zwald, and C. L. Rawson. 2006. Survey of management

- practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. *J. Dairy Sci.* 89: 4723–4735.
- Chamberlain, A. J., B. J. Hayes., K. Savin., S. Bolormaa., H. C. McPartlan., P. J. Bowman., C. Van Der Jagt., S. MacEachern, and M. E. Goddard. 2012. Validation of single nucleotide polymorphisms associated with milk production traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95: 864–875.
- Cochran, S. D., J. B. Cole, D. J. Null, and P. J. Hansen. 2013. Discovery of single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with fertility and production traits in Holstein cattle. *Genetics* 14: 49-72.
- Collier, R. J., G. E. Dahl, and M. J. VanBaale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89: 1244–1253.
- Collier, R. J., J. L. Collier., R. P. Rhoads, and L. H. Baumgard. 2008. Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. *J. Dairy Sci.* 91: 445–454.
- Conover, C. A. 2012. Key questions and answers about pregnancy associated plasma protein-A. *Trends Endocrinol. Metab.* 23: 242–249.
- Consuelo, A. S., J. L. Voge., P. Y. Aad., D. T. Allen., D. R. Stein., J. R. Malayer, and L. J. Spicer. 2005. Pregnancy-associated plasma protein-A and insulin-like growth factor binding protein mRNAs in granulosa cells of dominant and subordinate follicles of preovulatory cattle. *Domest. Anim. Endocrin.* 28: 46–63.
- Correa-Calderón, A., L. Avendaño-Reyes., A. Rubio-Villanueva., D. V. Armstrong., J. F. Smith and S. K. DeNise. 2002. Efecto de un sistema de enfriamiento en la productividad de vacas lecheras bajo estrés calórico. *Agrociencia.* 36: 531-539.
- Correa-Calderón, A., C. I. Gómez-Álvarez., L. Avendaño-Reyes., R. Diaz-Molina., S. Medina-Cervantes., F. Rivera-Acuña., P. Luna-Nevárez, and U. Macias-Cruz. 2014.

- Efecto de la suplementación de progesterona y enfriamiento artificial post-inseminación sobre la eficiencia reproductiva de vaquillas Holstein durante el verano. *Arch. Med. Vet.* 46: 189-196.
- Dassonneville, R., R. F. Brøndum., T. Druet., S. Fritz., F. Guillaume., B. Guldbrandtsen., M. S. Lund., V. Ducroc, and G. Su. 2011. Effect of imputing markers from a low-density chip on the reliability of genomic breeding values in Holstein populations. *J. Dairy Sci.* 94: 3679–3686.
- De Roos, A. P. W., C. Schrooten., R. F. Veerkamp, and J. A. M. Van Arendonk. 2011. Effects of genomic selection on genetic improvement, inbreeding, and merit of young versus proven bulls. *J. Dairy Sci.* 94: 1559–1567.
- Dekkers, J. C. M. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock; strategies and lessons. *J. Anim. Sci.* 82 (13\_Suppl): E313-E328.
- Dekkers, J. C. M. 2010. Use of high-density marker genotyping for genetic improvement of livestock by genomic selection. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour.* 5: 1–13.
- Dekkers, J. C. M. 2012. Application of genomics tools to animal breeding. *Curr. Genomics.* 13: 207-212.
- Do Amaral, B. C., E. E. Connor., S. Tao., J. Hayen., J. Bubolz, and G. E. Dahl. 2009. Heat-stress abatement during the dry period: does cooling improve transition into lactation? *J. Dairy Sci.* 92: 5988–5999.
- Elsik, C. G., R. L. Tellam, and K. C. Worley. 2009. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science.* 324: 522–528.

- Fisher, P. J., B. Malthus., M. C. Walker., G. Corbett, and R. J. Spelman. 2009. The number of single nucleotide polymorphisms and on-farm data required for whole-herd parentage testing in dairy cattle herds. *J. Dairy Sci.* 92: 369–374.
- Fortes, M. R. S., K. L. DeAtley., S. A. Lehnert., B. M. Burns., A. Reverter., R. J. Hawken., G. Boe-Hansen., S. S. Moore, and M. G. Thomas. 2013. Genomic regions associated with fertility traits in male and female cattle: advances from microsatellites to high-density chips and beyond. *Anim. Reprod. Sci.* 141: 1–19.
- Frank, S. J. 2001 Growth hormone signalling and its regulation: preventing too much of a good thing. *Growth Horm. and IGF. Res.* 11: 201–212.
- Freud, R. J, and R. C. Littell. 2000. SAS system for regression. Sas Institute.
- Galvão K. N., L. F. Greco., J. M. Vilela., M. F. Sá Filho, and J. E. P. Santos. 2009. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci.* 92: 1532-1542.
- Galvão, K. N. 2013. Uterine diseases in dairy cows: understanding the causes and seeking solutions. *Anim. Reprod.* 10: 228-238.
- Garrett, A. J., G. Rincon., J. F. Medrano., M. A. Elzo., G. A. Silver, and M. G. Thomas. 2008. Promoter region of the bovine growth hormone receptor gene: single nucleotide polymorphism discovery in cattle and association with performance in Brangus bulls. *J. Anim. Sci.* 86: 3315–3323.
- Garrick, D. J. 2011. The nature, scope and impact of genomic prediction in beef cattle in the United States. *Genet. Sel. Evol.* 43: 10-1186.
- Geisert, R. D., C-Y. Lee., F. A. Simmen., M. T. Zavy., A. E. Fliss., F. B. Bazer, and R. C. M. Simmen. 1991. Expression of messenger RNAs encoding insulin-like growth factor-I,

- II, and insulin-like growth factor binding protein-2 in bovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 45: 975–983.
- Goddard, M. E, and B. J. Hayes. 2007. Genomic selection. *J. Anim. Breed. Genet.* 124: 323–330.
- González-Recio, O, and R. Alenda. 2005. Genetic parameters for female fertility traits and a fertility index in spanish dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88: 3282–3289.
- Goyache, F., J. P. Gutiérrez., I. Fernández., L. J. Royo, and I. Álvarez. 2005. Genetic analysis of days open in beef cattle. *Livest. Prod. Sci.* 95: 283–289.
- Granada-Ybern, M. L. 2006. Factor de crecimiento similar a la insulina y sus proteínas de transporte. *Endocrinol Nutr.* 53: 467-75.
- Griffiths, A. J. F., J. H. Miller., D. T. Suzuki., R. C. Lewontin, and W. M. Gelbart. 2000. An introduction to genetic analysis. (7th. ed). New York, NY, E.U.: W. H. Freeman.
- Guillaume, F., S. Fritz., D. Boichard, and T. Druet. 2008. Short Communication: correlations of marker-assisted breeding values with progeny-test breeding values for eight hundred ninety-nine French Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 91: 2520–2522.
- Habier, D., R. L. Fernando, and J. C. M. Dekkers. 2007. The impact of genetic relationship information of genome assisted breeding values. *Genetics* 177: 2389–2397.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Dairy Sci.* 82 (Suppl 2): 10-20.
- Hansen, L. B. 2000. Consequences of selection for milk yield from a geneticist's viewpoint. *J. Dairy Sci.* 83: 1145–1150.
- Hansen, P. J, and C. F. Arechiga. 1999. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cows. *J. Anim. Sci.* 77: 36-50.

- Hayes, B. J., P. J. Bowman., A. J. Chamberlain, and M. E. Goddard. 2009. Invited review: genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *J. Dairy Sci.* 92: 433–443.
- Hull, K. L, and S. Harvey. 2001. Growth hormone: roles in female reproduction. *J. Endocrinol.* 168: 1–23.
- Huzzey, J. M., D. M. Veira., D. M. Weary, and M. A. G. Von Keyserlingk. 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 90: 3220–3233.
- Jiang, H, and M. C. Lucy. 2001. Variants of the 5'-untranslated region of the bovine growth hormone receptor mRNA: Isolation, expression and effects on translational efficiency. *Gene.* 265: 45–53.
- Keller, M. L., A. J. Roberts, and G. E. Seidel, Jr. 1998. Characterization of insulin-like growth factor-binding proteins in the uterus and conceptus during early conceptus elongation in cattle. *Biol. Reprod.* 59: 632–642.
- Khatib, H., R. L. Monson., V. Schutzkus., D. M. Kohl., G. J. M. Rosa, and J. J. Rutledge. 2008. Mutations in the STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. *J. Dairy Sci.* 91: 784–793.
- Khatib, H., W. Huang., X. Wang., A. H. Tran., A. B. Bindrim., V. Schutzkus., R. L. Monson, and B. S. Yandell. 2009. Single gene and gene interaction effects on fertilization and embryonic survival rates in cattle. *J. Dairy Sci.* 92: 2238–2247.
- Khodaei-Motlagh, M., A. Z. Shahneh., R. Masoumi, and F. Derensis. 2011. Alterations in reproductive hormones during heat stress in dairy cattle. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 5552-5558.
- König, S., H. Simianer, and A. Willam. 2009. Economic evaluation of genomic breeding programs. *J. Dairy Sci.* 92: 382-391.

- Koopae, H. K, and A. E. Koshkoiyeh. 2014. SNP's genotyping technologies and their applications in farm animals breeding programs: Review. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57: 87-95.
- Krebs, D. L, and D. J. Hilton. 2000. SOCS: physiological suppressors of cytokine signaling. *J. Cell. Sci.* 113: 2813-2819.
- Kuhn, M. T., P. M. VanRaden, and J. L. Hutchison. 2004. Use of early lactation days open records for genetic evaluation of cow fertility. *J. Dairy Sci.* 87: 2277–2284.
- Leroy, J., A. Van Soom, G. Opsomer, and P, Bols. 2008. The consequences of metabolic changes in high-yielding dairy cows on oocyte and embryo quality. *The Animal Consortium.* 8: 1120-1127.
- Lindhé, B, and J, Philipsson. 2008. Conventional breeding programmes and genetic resistance to animal diseases. *Rev. Sci. Tech.* 17: 291-301.
- Littell, R. C., W. W. Stroup, and R. J. Freund. 2002. SAS for linear models. 4th Ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Lozano-Domínguez, R. R., M. A. Asprón-Pelayo., C. G. Vásquez-Peláez., E. González-Padilla, and C. F. Aréchiga-Flores. 2010. Efecto del estrés calórico sobre la producción embrionaria en vacas superovuladas y la tasa de gestación en receptoras. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1: 209-225.
- Luna-Nevárez, P., G. Rincón., J. F. Medrano., D. G. Riley., C. C. Chase., S. W. Coleman., K. L. DeAtleye., A. T. Islas., G .A. Silvere, and M. G. Thomas. 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.* 3:185-200.
- Mader, T. L., D. Griffin, and L. Hahn. 2007. Managing feedlot heat stress. NebGuide. G1409. University of Nebraska.

- Makker, H. P. S. 2005. Applications of gene-based technologies for improving animal production and health in developing countries. IAEA/FAO. Proceedings of international symposium on biotechnology in food and agriculture. Springer. Netherlands. Conf 10.
- McDougall, S., R. Macaulay, and C. Compton. 2007. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 99: 9-23.
- Melendez, P., J. McHale., J. Bartolome., L. F. Archbald, and G. A. Donovan. 2004. Uterine involution and fertility of Holstein cows subsequent to early postpartum PGF $2\alpha$  treatment for acute puerperal metritis. *J. Dairy Sci.* 87:3238–3246.
- Meuwissen, T. H. E., B. J. Hayes, and M. E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics.* 157: 1819–1829.
- Moallem, U., R. Blanck., H. Lehrer., L. Livshitz., M. Zachut, and A. Arieli. 2011. Effects of high dietary crude protein on the characteristics of preovulatory follicles in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 94: 785–792.
- Montaño, B. M., M. V. E. Vega., P. S. I. Román., B. A. Álvarez., C. J. M. Medina., V. G. Martínez, y U. A. Ríos. 2014. Correlaciones de rango entre diferencias esperadas de la progenie y valores genómicos predichos a partir de un microarreglo para características de crecimiento en ganado de carne. Reunión Nacional de Innovación Acuícola y Pesquera (Resumen). pp. 149.
- Moore, K, and W. W. Thatcher. 2006. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89: 1254–1266.
- Morin, P. A., G. Luikart., R. K. Wayne, and the SNP workshop group. 2004. SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 4: 208-216.

- Moser, G., M. S. Khatkar., B. J. Hayes, and H. W. Raadsma. 2010. Accuracy of direct genomic values in Holstein bulls and cows using subsets of SNP markers. *Genet. Sel. Evol.* 42: 37-52.
- Mrode, R. A. 2005. *Linear models for the prediction of animal breeding values.* (2ed). Cab intl.
- Mullen, M. P., D. P. Berry., D. J. Howard., M. G. Diskin., C. O. Lynch., E. W. Berkowicz., D. A. Magee., D. E. MacHugh, and S. M. Waters. 2010. Associations between novel single nucleotide polymorphisms in the *Bos Taurus* growth hormone gene and performance traits in Holstein-Friesian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93: 5959–5969.
- NRC. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle.* 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Oltenacu, P. A, and D. M. Broom. 2013. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Anim. Welfare.* 19: 39-49.
- Oseni, S., I. Misztal, S. Tsuruta, and R. Rekaya. 2003. Seasonality of days open in US Holstein. *J. Dairy Sci.* 86: 3718–3725.
- Oseni, S., S. Tsuruta., I. Misztal, and R. Rekaya. 2004. Genetic parameters for days open and pregnancy rates in US Holsteins using different editing criteria. *J. Dairy Sci.* 87: 4327–4333.
- Pershing, R. A., M. C. Lucy., W. W. Thatcher, and L. Badinga. 2002. Effects of BST on oviductal and uterine genes encoding components of the IGF system in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 3260–3267.
- Pinedo, P. J, and A. De Vries. 2010. Effect of days to conception in the previous lactation on the risk of death and live culling around calving. *J. Dairy Sci.* 93: 968–977.

- Pritchard, T., M. Coffey., R. Mrode, and E. Wall. 2013. Genetic parameters for production, health, fertility and longevity traits in dairy cows. *Animal*. 7: 34–46.
- Pryce, J. E., S. Bolormaa., A. J. Chamberlain., P. J. Bowman., K. Savin., M. E. Goddard, and B. J. Hayes. 2010. A validated genome-wide association study in 2 dairy cattle breeds for milk production and fertility traits using variable length haplotypes. *J. Dairy Sci.* 93: 3331–3345.
- Pszczola, M., I. Aguilar, and I. Misztal. 2009. Short communication: Trends for monthly changes in days open in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 92: 4689–4696.
- Raadsma, H. W., K. R. Zenger., M. S. Khatkar., R. Crump., G. Moser., J. Solkner., J. A. L. Cavanagh., R. J. Hawken., M. Hobbs., W. Barris., F. W. Nicholas, and B. Tier. 2007. Genome wide selection in dairy cattle based on high-density genome-wide SNP analysis: from discovery to application. *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* 17: 231-234.
- Renaudeau, D., A. Collin., S. Yahav., V. De Babilio., J. L. Gourdine, and R. J. Collier. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal*. 6: 707–728.
- Rhoads, M. L., J. P. Meyer., S. J. Kolath., W. R. Lamberson, and M. C. Lucy. 2008. Growth hormone receptor, insulin-like growth factor (IGF)-1, and IGF binding protein-2 expression in the reproductive tissues of early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1802–1813.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads., M. J. VanBaale., R. J. Collier., S. R. Sanders., W. J. Weber., B. A. Crooker, and L. H. Baumgard. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.* 92:1986–1997.

- Rincon, G., M. G. Thomas, and J. F. Medrano. 2007. SNP identification in genes involved in GH-IGF-I signaling on BTA5. *Int. Plant. Anim. Genome XV*: P536.
- Rivera, G. M., and J. E. Fortune. 2003. Proteolysis of insulin-like growth factor binding protein -4 and -5 in bovine follicular fluid: Implications for ovarian follicular selection and dominance. *Endocrinology*. 144: 2977–87.
- Rotwein, P., K. M. Pollock., D. K. Didier, and G. G. Krivi. 1986. Organization and sequence of the human insulin-like growth factor I gene. Alternative RNA processing produces two insulin-like growth factor I precursor peptides. *J. Biol. Chem.* 261: 4828-4832.
- Sadeghi, M., M. M. Shahrabak, G. R. Mianji, and A. N. Javaremi. 2007. Polymorphism at locus of STAT5A and its association with breeding values of milk production traits in Iranian Holstein bulls. *Livest. Sc.* 123: 97–100.
- Saxton, A. M., M. G. Balzarini., A. Cappio-Borlino., W. Czika., J. D. Fry., G. Gibson, and J. L. Guerra. 2004. Genetic analysis of complex traits using SAS. Institute, Inc., North Carolina.
- Schaeffer, L. R. 2006. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *J Anim. Breed Genet.* 123: 218-223.
- Schopen, G. C. B., M. H. P. W. Visker., P. D. Koks., E. Mullaart., J. A. M. Van Arendonk, and H. Bovenhuis. 2011. Whole-genome association study for milk protein composition in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94: 3148–3158.
- Schrooten, C., Bovenhuis, H., Van-Arendonk, J. A. M. and P. Bijma. 2005. Genetic progress in multistage dairy cattle breeding schemes using genetic markers. *J. Dairy Sci.* 88: 1569-1581.
- Schuenemann, G. M., I. Nieto., S. Bas., K. N. Galvão, and J. Workman. 2011. Dairy calving management: effect of perineal hygiene score on metritis. *J. Dairy Sci.* 94: 744.

- Sheldon, I. M., G. S. Lewis., S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 65: 1516-1530.
- Sherman, E. L., J. D. Nkrumah., B. M. Murdoch., C. Li, Z. Wang., A. Fu, and S. S. Moore. 2008. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86:11-16.
- Song, S., C. Y. Lee., M. L. Green., C. S. Chung., R. C. M. Simmen, and F. A. Simmen. 1996. The unique endometrial expression and genomic organization of the porcine IGFBP-2 gene. *Mol. Cell. Endocrinol.* 120: 192–202.
- Sørensen, M. K., E. Norberg., J. Pedersen, and L. G. Christensen. 2008. Invited Review: Crossbreeding in dairy cattle: a danish perspective. *J. Dairy Sci.* 91: 4116–4128.
- Sun, C., P. M. VanRaden., J. R. O’Connell., K. A. Weigel, and D. Gianola. 2013. Mating programs including genomic relationships and dominance effects. *J. Dairy Sci.* 96: 8014–8023.
- Tao, S., A. P. A. Monteiro., I. M. Thompson., M. J. Hayen, and G. E. Dahl. 2012. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 95: 7128–7136.
- Thomasen, J. R., C. Egger-Danner., A. Willam., B. Guldbrandtsen., M. S. Lund, and A. C. Sørensen. 2013. Genomic selection strategies in a small dairy cattle population evaluated for genetic gain and profit. *J. Dairy Sci.* 97: 458–470.
- Umesh, S., R. Deb., R. R. Alyethodi., R. Alex., S. Kumar., S. Chakraborty., K. Dhama, and A. Sharma. 2014. Molecular markers and their applications in cattle research: A review. *B.G.M.* 6: 49-58.

- Van Vleck, L. D., E. J. Pollak, and E. A. B. Oltenacu. 1987. *Genetics for the animal sciences*. New York: W. H Freeman.
- VanRaden, P. M., A. H. Sanders., M. E. Tooker., R. H. Miller., H. D. Norman., M. T. Kuhn, and G. R. Wiggans. 2004. Development of a national genetic evaluation for cow fertility. *J. Dairy Sci.* 87: 2285–2292.
- Varvio, S. L., T. Iso-Touru. , J. Kantanen., S. Viitala., I. Tapio., A. Ma'ki-Tanila., M. Zerabruk, and J. Vilkki. 2008. Molecular anatomy of the cytoplasmic domain of bovine growth hormone receptor, a quantitative trait locus. *Proc. R. Soc. B.* 275: 1525–1534.
- Visser, P. M., J. A. Woolliams., D. Smith, and J. L. Williams. 2002. Estimation of pedigree errors in the UK dairy population using microsatellite markers and the Impact on selection. *J. Dairy Sci.* 85:2368–2375.
- Waters, S. M., M. S. McCabe., D. J. Howard., L. Giblin., D. A. Magee., D. E. MacHugh, and D. P. Berry. 2011. Associations between newly discovered polymorphisms in the *Bos Taurus* growth hormone receptor gene and performance traits in Holstein-Friesian dairy cattle. *Anim. Genet.* 42: 39–49.
- Weir, B. S., D. J. Balding, and M. Bishop. 2001. In: *Handbook of statistical genetics*. Cannings C. editors. New York, NY: John Wiley and Sons, LTD.
- Weller, J. I, and M. Ron. 2011. Invited review: Quantitative trait nucleotide determination in the era of genomic selection. *J. Dairy Sci.* 94: 1082–1090.
- West, J. W. 2003. Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 2131-2144.
- Wickramasinghe, S., G. Rincon, and J. F. Medrano. 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. *J. Dairy Sci.* 94: 1552–1558.
- Winkelman, L. A., M. C. Lucy., T. H. Elsasser., J. L. Pate, and C. K. Reynolds. 2008. Short Communication: Suppressor of cytokine signaling-2 mRNA increases after parturition in the liver of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1080–1086.
- Yang, W. C., S. J. Li., K. Q. Tang., G. H. Hua., C. Y. Zhang., J. N. Yu., L. Han, and L. G. Yang. 2010. Polymorphisms in the 5' upstream region of the FSH receptor gene, and their association with superovulation traits in Chinese Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 119: 172–1777.
- Zimbelman, R. B., R. P. Rhoads., M. L. Rhoads., G. C. Duff, L. H. Baumgard, and R. J. Collier. 2009. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. *Proceedings of the Southwest Nutrition Conference* (ed. RJ Collier), pp. 158–169.