



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

## **CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA**

**EVALUACION GENÉTICO-MOLECULAR DE PIE DE  
CRÍA SUIZO AMERICANO EN EL ESTADO DE CHIAPAS**

**EDY ALFONSO RUIZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2011**

---

---

La presente tesis, titulada: **EVALUACION GENÉTICO-MOLECULAR DE PIÉ DE CRÍA SUIZO AMERICANO EN EL ESTADO DE CHIAPAS**, realizada por el alumno: **EDY ALFONSO RUIZ**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS**  
**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**  
**GANADERÍA**

**CONSEJO PARTICULAR**

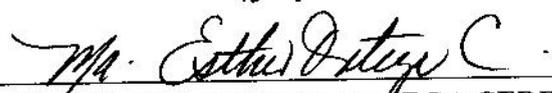
CONSEJERO:

  
DR. JOSÉ GUADALUPE HERRERA HARO

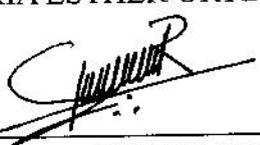
ASESOR:

  
DRA. REYNA ISABEL ROJAS MARTINEZ

ASESOR:

  
DRA. MARIA ESTHER ORTEGA CERRILLA

ASESOR:

  
DR. CÉSAR CORTEZ ROMERO

ASESOR:

  
DR. CLEMENTE LEMUS FLORES

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 5 de Agosto de 2011.

# EVALUACION GENÉTICO-MOLECULAR DE PIÉ DE CRÍA SUIZO AMERICANO EN EL ESTADO DE CHIAPAS

Edy Alfonso Ruiz, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2011

## RESUMEN GENERAL

Un estudio genético molecular fue realizado en la región tropical de Chiapas, México, para conocer las características morfométricas y estimar el polimorfismo de los genes Prolactina y Kappa caseína en una población de ganado Suizo Americano. La extracción de ADN se obtuvo de muestras de sangre y mediante PCR-RFLP se determinaron el polimorfismo de prolactina (PRL) y kappa caseína (K-CSN). En los animales en estudio se obtuvieron medidas morfométricas, clasificándolos en grupos dentro de la raza. Usando el PROC GLM de SAS se realizaron análisis exploratorios multivariados de Componentes Principales para definir los morfotipos y mediante el uso del software POPGENE se estimaron distancias e identidades genéticas, así como las frecuencias génicas y genotípicas, las cuales se relacionaron con producción de leche. La descripción morfométrica indicó que el 70 % de la variación entre animales fue explicada por seis variables. Las pruebas moleculares mostraron que las frecuencias de PRL fueron: Alelos A y B: 0.8765 y 0.1235 respectivamente y las frecuencias genotípicas fueron: AA=0.776, AB=0.174 y BB=0.026. Para K-CSN las frecuencias alélicas fueron: A=0.494 y B=0.505 y las genotípicas: AA=0.318, AB= 0.354 y BB= 0.327, siendo el alelo A de PRL y B de K-CSN en los que se observó la mayor producción de leche. Se concluye que los programas de selección regionales deberían considerar a los genes PRL y K-CSN para maximizar su progreso genético por generación. Así mismo, se deberían incluir morfotipos para definir estándares raciales en el trópico mexicano.

**Palabras clave:** Prolactina, K-CSN , Morfometría, Suizo Americano

# GENETIC-MOLECULAR EVALUATION OF AMERICAN SWISS CATTLE BREEDING STOCK IN THE STATE OF CHIAPAS

Edy Alfonso Ruiz, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2011

A genetic-molecular study was carry out at the tropical region of Chiapas, México, in order to know the morphometric characteristics and estimate polymorphism of the Prolactin and Kappa casein genes in a population of American Swiss dairy cattle. DNA extraction was realized from blood samples, and polymorphism of prolactin (PRL) and kappa casein (K-CSN) were determined using PCR-RFLP procedures. Morphometric measurements were taken from the animals in study, classifying them into breed groups. Principal component of multivariate exploratory analyses was used with PROC GLM of SAS to define morphotypes. POPGENE software was used to get genetic identities and genetic distances. Allelic and genotype frequencies were related to milk production. The morphometric description indicated that 70% of the variation among animals was explained by six variables. The molecular test showed that the PRL frequencies were: allele A=0.8765 and B=0.1235; genotype frequencies were: AA=0.776, AB=0.174, and BB=0.026. For K-CSN, the frequencies were: A=0.494 and B=0.505, and AA=0.318, AB= 0.354, and BB= 0.327. Allele A for PRL and B for K-CSN were the ones that showed the greatest relationship with milk production. It is concluded that regional selection programs should consider the PRL and K-CSN genes to maximize their genetic progress per generation. Also, should be including breed's morphotypes in order to define racial standards in the Mexican tropics.

**Key words:** Prolactin, K-CSN, Morphometrics. American Swiss

## **DEDICATORIA**

**DIOS.** Por haberme dado la oportunidad de llegar a cumplir los objetivos en mi vida y servir de ejemplo para mis hijos y sobrinos.

**FAMILIA.** Por su paciencia, comprensión y cariño. **MI ESPOSA.** María Antonia Castillejos Vázquez, ejemplo de mujer, **MI HIJA** Karen Ilián Alfonso Castillejos, por su cariño y comprensión, a **MI HIJO**, Edy Manuel Alfonso Castillejos, por haber tomado la responsabilidad de la familia en mi ausencia.

**PAPAS.** Manuel Alfonso Solís y Gledy Ruiz Ruiz. Gracias por su gran apoyo, los quiero muchísimo.

**SUEGRA.** Enelva Vázquez Navarro. Gracias por ayudarnos con la familia.

**HERMANO (as).** María del Rosario, Isabel, Araceli, Carmen y Elías Alfonso Ruiz. Gracias por apoyarme. Estoy en deuda con ustedes.

**A todos mis Sobrinos (as).** Los quiero mucho.

**Cuñados (a).** Gracias por el apoyo.

**Amigos del Colegio.** Iván, Rafa, Fidel, Marianella, Melissa, Cinthia, Silvia, Lorena, Dulce, Enrique, Heriberto, David Chan, Román, Martín, gracias por ser mis amigos.

**A mis compañeros de Laboratorio.** Diana, Ruth, Yola, Dámaris, Ernesto, Tony, Chema, Abimael, Edgar, gracias por ser buenos compañeros.

## **AGRADECIMIENTOS**

**COLPOS.** Por ser la institución que me dio la oportunidad de formarme como Doctor en Ciencias y al mismo tiempo de adquirir los conocimientos necesarios para mi desarrollo profesional.

**CONACYT.** Por haberme apoyado con la beca para realizar los estudios de Doctorado, ya que de lo contrario no hubiera sido posible lograr este objetivo. Estoy sumamente agradecido.

**DR. JOSE GUADALUPE HERRERA HARO.** Por su apoyo en todo el trabajo de tesis, por sus consejos y recomendaciones. Gran docente y amigo.

**PROFESORES DE MI CONSEJO PARTICULAR.** Por el apoyo incondicional para la realización de la tesis, por las enseñanzas, sugerencias y aportaciones.

**DRA. REYNA I. ROJAS MARTINEZ.** Por el apoyo para la realización de las pruebas de laboratorio, así como la disponibilidad en la revisión de la tesis y artículo.

**UNACH.** En especial a la Facultad de Ciencias Agronómicas y de Medicina Veterinaria y Zootecnia por facilitarme los alumnos para el trabajo de campo y el apoyo de los docentes.

**M.C. HORACIO RUIZ HERNÁNDEZ.** Por apoyarme en el trabajo de campo en Chiapas y apoyar a los jóvenes en la realización de sus tesis de licenciatura en Medicina Veterinaria.

**DRES. RENE PINTO RUIZ Y HERIBERTO GOMEZ CASTRO.** Por el apoyo con los jóvenes para la realización de tesis de licenciatura en Ciencias agronómicas.

**A LOS PROPIETARIOS DE LOS RANCHOS:** Lic. Pedro Reynol Ozuna (Rancho La Realidad), MVZ Efraín Coutiño (Rancho Sta Lucía), Sr. Romey Nataren (Rancho Los Flamboyanes), Pfra. Ma. de Lourdes Bermúdez (Rancho La Gloria), M.C. Efraín Llamas (Rancho Vesubio), Joven Edy Manuel Alfonso (Quinta Paradigma). Gracias a todos por darme las facilidades de trabajar con sus animales.

CONTENIDO	Pagina
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>2</b>
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1. GENES RELACIONADOS CON CALIDAD Y PRODUCCIÓN DE LECHE	
2.1.1. Composición proteica de la leche de bovinos.....	4
2.1.1.1. Gen de kappa caseína (K-CSN).....	4
2.1.1.2. Gen de prolactina (PRL).....	6
2.1.1.3. La prolactina como hormona.....	6
2.1.1.4. Factores liberadores de prolactina.....	7
2.1.1.5. Hormonas hipotalámicas inhibitoras de prolactina.....	8
2.1.2. Técnicas moleculares para detección de genes.....	9
2.1.2.1. PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).....	9
2.1.2.2. RFLP's (Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción)	10
Ventajas de los marcadores RFLP.....	11
Limitaciones de los marcadores RFLP.....	11
2.1.2.3. PCR-AFLP's (Longitud de fragmentos amplificados polimórficos).	12
Las ventajas de los AFLP's.....	12

Las limitaciones.....	13
2.1.2.4. Microsatélites o SSR (Secuencias Simples Repetidas).....	13
Las desventajas de los microsatélites.....	13
2.1.2.5. RAPD's (Amplificación Aleatoria de Polimorfismos de ADN).....	14
Aplicaciones del método RAPD.....	15
<b>2.2. MORFOMETRÍA</b>	
2.2.1. Instrumentos de medición.....	17
2.2.2. Importancia de la Morfometría.....	17
2.2.3. Caracterización de razas.....	18
2.2.4. Evaluación lineal.....	18
2.2.5. Descripción de las principales características de tipo de la raza Suizo Americano	19
2.2.5.1. Puntos de observación en el juzgamiento.....	20
<b>3. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>21</b>
 <b>CAPITULO I. POLIMORFISMO DEL GEN PROLACTINA Y SU RELACION CON PRODUCCION DE LECHE EN GANADO SUIZO AMERICANO</b>	
1.1. RESUMEN.....	26
1.2. ABSTRACT.....	27
1.3. INTRODUCCION.....	27
1.4. MATERIALES Y METODOS.....	29
1.5. RESULTADOS.....	31
1.6. DISCUSION.....	35

1.7. REFERENCIAS.....	37
-----------------------	----

## **CAPITULO II. POLIMORFISMO GEN KAPPA CASEINA Y SU RELACION CON PRODUCCION DE LECHE EN VACAS SUIZO AMERICANO**

2.1. RESUMEN.....	41
-------------------	----

2.2. ABSTRACT.....	42
--------------------	----

2.3. INTRODUCCION.....	43
------------------------	----

2.4. MATERIALES Y METODOS.....	43
--------------------------------	----

2.5. RESULTADOS.....	45
----------------------	----

2.6. DISCUSIÓN.....	47
---------------------	----

2.7. CONCLUSIONES.....	48
------------------------	----

2.8. REFERENCIAS.....	49
-----------------------	----

## **CAPITULO III. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE VACAS SUIZO AMERICANO EN UNA REGIÓN TROPICAL DE CHIAPAS, MÉXICO**

3.1. RESUMEN.....	51
-------------------	----

3.2. ABSTRACT.....	52
--------------------	----

3.3. INTRODUCCION.....	53
------------------------	----

3.4. MATERIALES Y METODOS.....	55
--------------------------------	----

3.5. RESULTADOS.....	57
----------------------	----

3.6. DISCUSION.....	61
---------------------	----

3.7. CONCLUSIONES.....	62
------------------------	----

3.8. REFERENCIAS.....	62
-----------------------	----

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES.....	65
---	----

#### **4. ANEXOS**

4.1. PUNTOS DE OBSERVACIONES UTILIZADOS PARA JUZGAMIENTO EN GANADO LECHERO.....	66
--	----

4.2. GLOSARIO DE TERMINOS.....	72
--------------------------------	----

4.3. FOTOGRAFIAS TOMADAS DURANTE EL TRABAJO DE CAMPO.....	76
---	----

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Vías somatosensoriales que intervienen durante el reflejo inducido por el amamantamiento para la liberación de prolactina.....	9
Figura 2. Instrumento de medida para zoometría.....	17
Figura 3. Rangos de valores de aptitud de transmisión estándar (STA) .....	19

## LISTA DE ABREVIATURAS

- (PIV) Peptido intestinal vasoactivo
- AMP<sub>c</sub> (Monofosfato de adenosine cíclico)
- UV (Ultravioletas)
- AP-PCR (Arbitrarily Primed PCR)
- K-CSN (Kappa caseína)
- PRL (Prolactina)
- PIF (Factor inhibidor de prolactina)
- DA (Dopamina)
- PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)
- QTL (Quantity Traits Locus)
- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphic)
- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphic)
- SSR (Simple Sequence Repeats)
- PIC (Contenido de información polimórfica)
- RAPDs (Random Amplification of Polymorphic DNA)
- FAO (Food Agricultural Organization)
- HTP (Habilidad de Transmisión Predicha)
- PTA (Predicted Transmitting Ability)
- STA (Standart Transmitting Ability)
- 2X, EM (Dos ordeños y Equivalente Maduro)

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La importancia de la actividad ganadera en México se basa en la producción de alimentos para consumo humano y en la generación de empleos en el área rural, la cual ocupa una extensión de 110 millones de ha, que representan el 56% del territorio nacional. Cuenta con 30.4 millones de cabezas de ganado, de las cuales dos millones es ganado lechero, distribuido en 789 mil unidades de producción, que generan más de 200 mil empleos permanentes y ofertan al mercado 10,805 millones de litros anuales, siendo la ganadería especializada la que aporta el 85% y la de doble propósito el 15% restante (SAGARPA, 2009).

El subsector ganadero de Chiapas ocupa alrededor de tres millones de ha, bajo el sistema tradicional de cría y manejo extensivo de los hatos, organizados como empresas familiares (Anónimo, 2005). Cuenta con un inventario ganadero de dos millones de cabezas de ganado bovino, ocupando el quinto lugar nacional y el décimo primero en producción de leche con 365 millones de litros anuales. La ganadería de doble propósito es la predominante, sin embargo, en los últimos años, la cría de ganado Suizo Americano ha crecido significativamente, siendo esta raza la que aporta la mayor parte del material genético al sistema de doble propósito, debido al interés del ganadero en incrementar la producción de leche. Por esta razón, es imprescindible que los programas de mejoramiento genético regionales pongan atención en la calidad de los reproductores, exigir que cuenten con una evaluación confiable que incluya datos productivos, genealógicos y moleculares.

Es importante conocer la expresión de los genes tanto de características productivas como de características de tipo. Los genes responsables de características morfológicas son probablemente pocos y están relacionados con rasgos subjetivos como el tipo del animal (Orozco, 2001), de esta manera, las técnicas morfométricas consideran además de las mediciones directas del animal, el estado funcional de los órganos directamente implicados en la reproducción para valorar indirectamente su estado fisiológico (Martínez, 2002).

El objetivo del estudio fue determinar el polimorfismo de los genes prolactina y kappa caseína mediante PCR- RFLP y caracterizar

morfométricamente una población de ganado Suizo Americano, en la región tropical de Chiapas, México.

## **1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La explotación de ganado bovino en el Estado de Chiapas, se apoya en el pastoreo de tres millones de hectáreas, de las cuales el 52% son praderas mejoradas y el resto son naturales. Sus indicadores productivos son bajos, con tasas de extracción de 12-13% anual, pariciones del 58-65% y producción de leche de 700 kg en 180 días (SAGARPA-SIAP, 2008). Lo anterior es consecuencia de bajos índices reproductivos, baja proporción hembras: machos, edad al primer parto superior a tres años e intervalos entre partos mayores de 18 meses. El cruzamiento entre razas es una práctica común, siendo la craza predominante el Suizo Americano con razas cebuínas. En los últimos años, con el programa “*Mejoramiento Genético*” realizado por los gobiernos estatal y federal, se ha observado un incremento de la producción de leche, que puede ser consecuencia de una mayor eficiencia productiva y reproductiva de los hatos y una mejor adaptación de las razas a las condiciones tropicales (SAGARPA, 2009).

Los programas tradicionales de evaluación genética de animales domésticos incluyen herramientas tecnológicas relacionadas con la evaluación de la producción, tipo y morfometría y aquellos relacionados con la salud de la ubre, aplomos y facilidad de parto que influyen en la vida productiva e incrementan la eficiencia de los procesos productivos y la rentabilidad de los hatos ganaderos. Algunos investigadores (Casas, 2006) señalan la importancia de incorporar herramientas modernas para la mejora genética mediante un enfoque genómico en los programas tradicionales de evaluación, buscando identificar genes asociados con características productivas de importancia económica. Así, en ganado lechero, se ha evidenciado la importancia de identificar por medio de marcadores moleculares la presencia de genotipos deseables de prolactina y kappa caseína (Alipanah *et al.*, 2008; Medrano y Córdova, 1990) por su influencia en el rendimiento y calidad de leche, además de buscar genes relacionados con

tolerancia a ambientes adversos y enfermedades hereditarias (Postiglioni *et al.*, 2002; Corva, 2005).

Debido a la escasa información cuantitativa en las ganaderías de cría en el Estado de Chiapas, consecuencia de la falta de programas de evaluación periódicos, es necesario realizar estudios para conocer la calidad genética de los animales que serán los progenitores de las siguientes generaciones, principalmente de las ganaderías de Suizo Americano, lo cual permitirá generar propuestas de manejo genético más eficientes que se reflejen en la productividad de los animales y mejoren la rentabilidad de las explotaciones lecheras en el trópico.

## **OBJETIVOS**

- Identificar genes candidatos de prolactina y kappa caseína en vacas y crías de la raza Suizo Americano, como una herramienta en la selección asistida por marcadores moleculares.
- Establecer morfotipos de la raza Suizo Americano en el estado de Chiapas, como un apoyo para la clasificación de la raza en México

## **HIPÓTESIS**

Las frecuencias de genotipos deseables AA de prolactina y BB de kappa caseína en vacas y crías de la raza Suizo Americano predominan sobre los genotipos menos deseables.

Existe más de un morfotipo que define las características de la raza Suizo Americano en la región Frailesca del estado de Chiapas.

## **2. REVISION DE LITERATURA**

### **2.1. GENES RELACIONADOS CON CALIDAD Y PRODUCCIÓN DE LECHE**

#### **2.1.1. Composición proteica de la leche de bovino**

De las proteínas que contiene la leche bovina, el 80% lo forman las caseínas alfa  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , beta-caseína y el 10% las k-caseínas, además de  $\beta$ -lactoglobulina, 2%, por  $\alpha$ -lactoalbúmina y pequeñas cantidades de enzimas e inmunoglobulinas (Muysson y Verrinder, 1989; Braunschweig *et al.*, 2000). Las caseínas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  constituyen el 48% de las caseínas totales, las  $\beta$ -caseínas el 35% y  $\kappa$ -caseínas el 13% y su concentración en la leche es de 3.5 g L<sup>-1</sup> (Grosclaude, 1988). Las  $\alpha$  y  $\beta$  caseínas contienen varios grupos serina fosfato, la k-caseína presenta pocos y baja capacidad para unirse al calcio, volviéndose insensible a la precipitación inducida por las proteínas lácteas (Muysson y Verrinder, 1989). Las k-caseína se precipita a pH de 4.5- 5.0 a una temperatura de 20 °C, seguida de proteólisis en la porción hidrofílica, ocasionada por la enzima 44 quimosina o pepsina, lo cual permite la formación del cuajo, materia prima para la elaboración del queso (Ginger y Grigor, 1999). Las caseínas están codificadas por genes autosómicos estrechamente ligados (Chessa *et al.*, 2003), siendo la unidad de transmisión genética el haplotipo.

##### **2.1.1.1. Gen de kappa caseína (K-CSN)**

El gen de k-caseína se localiza en el cromosoma 6 entre las regiones (31-33) y se han reportado once variantes alélicas, siendo los alelos A y B los más frecuentes (Formaggioni *et al.*, 1999). Está formada por 169 aminoácidos, con regiones variables en los codones 136 y 148 del tercer exón; la variante A contiene Treonina en el codón 136 (ACC) y Ácido aspártico en el codón 148 (GAT), difiere de las demás caseínas por el número de grupos fosfato fijados y en que está glucosilada, juega un papel importante en la estabilización de las micelas por la presencia del calcio y tiene la capacidad de ser hidrolizada rápidamente por la proteasa quimosina entre la Fenilalanina 105 y la Metionina 106 escindiendo la molécula en dos fragmentos. La hidrólisis destruye el poder estabilizador y

produce la coagulación de la leche. Las variantes (A y B) tienen diferentes efectos en la producción de queso, así, la variante B que contiene Isoleucina (ATC) y Alanina (GCT) presenta contenido proteico más alto, mayor estabilidad al calor y a la congelación, menor tiempo de coagulación manifestada en un cuajo más consistente y produce del 5-10% más de rendimiento de queso (Medrano y Cordova, 1990; Uffo *et al.*, 2000). En la detección de los genotipos AA, AB y BB se han utilizado muestras de leche de hembras lactantes (Barroso *et al.*, 1999).

La determinación de genotipos de las proteínas lácteas puede realizarse directamente con muestras de leche por electroforesis capilar con estándares analíticos comerciales (Meza *et al.*, 2010), con el inconveniente de efectuarlo solo durante la fase de lactancia. Sin embargo, en la actualidad existen técnicas moleculares PCR-RFLP (Restriction Fragment Leng Polymorphism) que permiten identificar animales portadores del genotipo de interés de cualquier sexo y edad, representando una ventaja para los propietarios de hatos lecheros cuando se evalúan animales que aún no producen leche y en machos. El incremento de la frecuencia alélica de la variante B es una de las vías para mejorar la eficiencia lechera para su transformación en queso (Prinzenberg *et al.*, 1996).

Con la técnica de PCR-RFLP Medrano y Córdova (1990) mencionan que es posible clasificar las K-CSN sin importar sexo, edad o estado fisiológico, es un procedimiento preciso y económico y los alelos pueden visualizarse en geles de agarosa, resultando ventajosa en tiempo y costo frente al uso de geles de acrilamida. Por otro lado, el uso de esta técnica en programas de mejoramiento es ampliamente recomendado para la selección de toros con el genotipo favorable e incrementar la frecuencia del alelo B (Schlieben *et al.*, 1991; Felmer y Butendieck, 1998). De la misma manera, Prinzenberg *et al.* (1996) consideran que para una raza que presente una frecuencia alélica de 0.25 para el alelo B de la kappa-caseína, es posible aumentar la frecuencia alélica con solo utilizar toros con el genotipo BB; aumentando la frecuencia de este alelo en 60% en la primera generación y alrededor del 100% en pocas generaciones.

### **2.1.1.2. Gen de prolactina (PRL)**

El gen de prolactina se localiza en el cromosoma 23, consta de cinco exones y cuatro intrones y se encuentra involucrado en múltiples funciones biológicas como la reproducción, osmoregulación, crecimiento tegumentario y sinergismo con esteroides (Barendse *et al.*, 1997). El gen de PRL consta de un fragmento de 156 bp, Cowan *et al.* (1990) detectaron un sitio polimórfico para la endonucleasa de restricción *Avall* considerando los polimorfismos obtenidos con esta enzima se han reconocido tres genotipos: El AA, con un fragmento de 156 bp sin digestión, AB, con tres fragmentos, uno de 156, 82 y 74 bp y el genotipo BB, con dos fragmentos, de 82 y 74 bp (Dybus *et al.*, 2005). Una mutación silenciosa de transición A-G en el codón para el aminoácido 103 en el exón 3 del gen de PRL da lugar al sitio apolimórfico de *Rsal* (Lewin *et al.*, 1992).

El gen se expresa en la glándula pituitaria anterior y otros sitios incluyendo el sistema nervioso central, el sistema inmune y la glándula mamaria (Ben-Jonatan *et al.*, 1996; Leprovost *et al.*, 1994).

El gen de prolactina del bovino parece ser un candidato excelente para el análisis del acoplamiento de los rasgos cuantitativos de producción de leche por (QTL). Dentro del gen se han reportado varios polimorfismos (Cowan *et al.*, 1989; Zhang *et al.*, 1994, Chung y Kim, 1997). La endonucleasa *Rsal*, se ha convertido en un marcador genético popular usado para la caracterización genética de las poblaciones de ganado por medio de PCR-RFLP (Mitra *et al.*, 1993; Chrenek *et al.*, 1998).

### **2.1.1.3. La prolactina como hormona**

Las hormonas que están relacionadas con la producción de leche en ganado bovino son: prolactina, hormona del crecimiento, insulina y tiroxina. La prolactina es una hormona polipeptídica secretada por la adenohipófisis, es similar en su estructura a la hormona de crecimiento y en algunas especies esta tiene propiedades biológicas similares (Cunninghan, 1999). Es una de las hormonas más versátiles, ejerce funciones biológicas específicas (Figura 1) en la producción de leche. Está documentado que la prolactina como hormona participa en más de

300 funciones, produciendo múltiples efectos en las diferentes especies de mamíferos, consta de 197-199 aminoácidos en la mayoría de las especies y la prolactina bovina consiste de 199 aminoácidos (Wallis, 1974, Sinha, 1995).

La PRL es necesaria para la iniciación y el mantenimiento de la lactancia, actúa a nivel de alvéolos mamarios para promover la síntesis y secreción de proteínas de la leche, es responsable de la síntesis de proteínas, lactosa y lípidos, así como de todos los componentes importantes de la leche (Leprovost *et al.*, 1994).

La secreción de PRL es mantenida durante la lactancia, el estímulo natural de amamantamiento es importante para la secreción de PRL (Figura 1) (Murai y Ben-Jonatan, 1987), regula las funciones reproductivas e inmunológicas y participa en la diferenciación y el crecimiento celular (Loretz y Bern, 1982; Russell, 1989; Kelly *et al.*, 1991). La variedad de efectos de la prolactina incluyen el crecimiento de la glándula mamaria (mamogénesis), síntesis de leche (lactogénesis), mantenimiento y secreción de leche (galactopoyesis), expresión de genes de lactosa y lípidos (Bern y Nicol, 1968; Akers *et al.*, 1981; Mitra *et al.*, 1993; Dybus, 2002), y juega un papel importante en el control homeostático (Grosvenor y Whitworth, 1974; Bern, 1975; Shennan, 1994; Buskila y Shoenfeld, 1996; Goffin *et al.*, 1998; Neidhart, 1998).

La secreción de prolactina no difiere entre alta y baja producción de leche, sin embargo, algunos investigadores han encontrado incrementos en el metabolismo y distribución de la prolactina entre los 30 y 150 días de lactación (Collier *et al.*, 1984).

#### **2.1.1.4. Factores liberadores de prolactina**

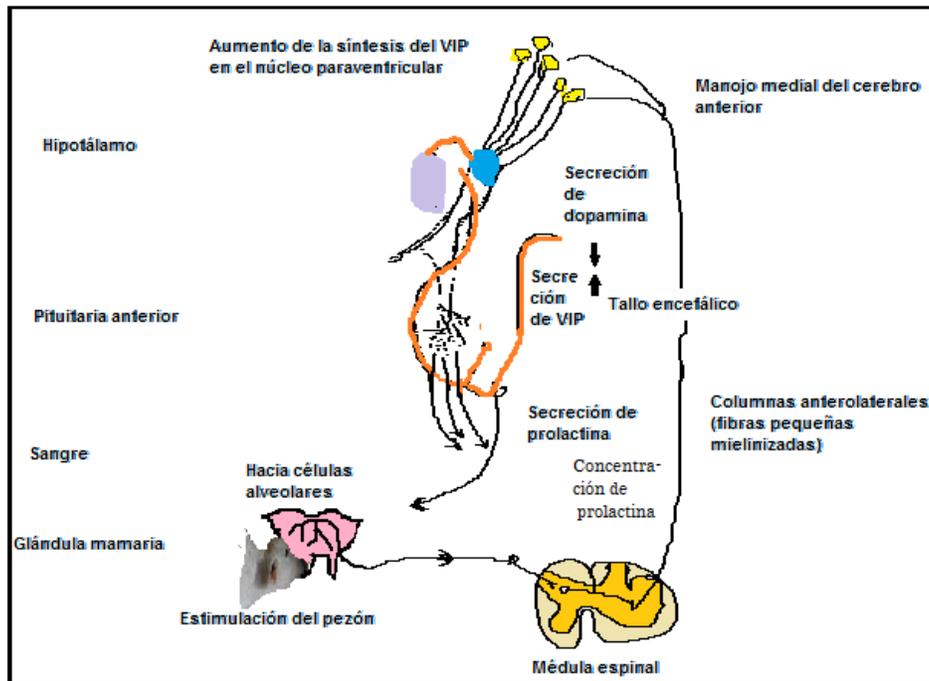
Los factores liberadores de PRL son neurotransmisores (serotonina, acetilcolina), sustancias opiáceas y estrógenos. Otros son la TSHRH, péptido intestinal vasoactivo (PIV), sustancia P, colecistoquinina, neurotensina, GHRH, GnRH, oxitocina, vasopresina y galanina. Estos factores se han observado experimentalmente, y aún su significado fisiológico en la especie humana es desconocido. La prolactina es liberada en el momento de la manipulación del

pezón a través de la ordeña o el amamantamiento, los estímulos sensoriales llegan al hipotálamo bloqueándose la síntesis de dopamina, principal inhibidor de la PRL, al tiempo que las neuronas del núcleo paraventricular son estimuladas para producir el PIV estimulante de la liberación de prolactina, ocurriendo una secreción de PRL con una duración de treinta minutos después de iniciado el retiro de la leche. La síntesis de PRL disminuye con el progreso de la lactancia (Hafez, 2000; Méndez *et al.*, 2005).

#### **2.1.1.5. Hormonas hipotalámicas inhibidoras de prolactina**

La hormona inhibidora denominada factor inhibidor de prolactina (PIF) regula la secreción de PRL, esta puede ser la catecolamina, dopamina, amina de bajo peso molecular sintetizada a partir de L-tirosina secretada desde terminales nerviosas del núcleo arcuato localizado en la eminencia media del cráneo y transportada a través del sistema porta hipofisiario hasta la adenohipófisis (Hafez, 2000). Se ha comprobado que la dopamina (DA) tiene actividad inhibidora de la liberación de PRL (Méndez *et al.*, 2005).

Los núcleos arcuato y paraventricular del hipotálamo producen dopamina, la cual viaja a través de los axones hasta las terminaciones nerviosas de la eminencia media, donde se libera al sistema de la (Dopamina tubero-infundibular) a la circulación portal y llega a la hipófisis anterior para inhibir la liberación de PRL a través de las interacciones con los receptores  $D_2$  (ligados a la adenilatociclasa). La DA inhibe la formación de  $AMP_c$  e inhibe la síntesis de fosfoinositol, paso importante en la regulación post-receptor de la secreción de PRL (Hafez, 2000).



**Figura 1.** Vías somatosensoriales que intervienen durante el reflejo inducido por el amamantamiento para la liberación de prolactina. (Adaptado de Johnson, 1988).

## 2.1.2. Técnicas moleculares para detección de genes

**2.1.2.1. PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).** La “reacción en cadena de la polimerasa” o PCR (por sus siglas en inglés), es una técnica desarrollada por Mullis en 1985, en la que es posible sintetizar millones de copias de un gen o de una región específica del DNA en dos horas a partir de cualquier genoma. El proceso inicia con la desnaturalización del DNA que consiste en separar las dos hélices mediante el uso de calor; posteriormente, cada una de las dos hebras del DNA desnaturalizado, se asocia por hibridación un fragmento de DNA sintético de hélice sencilla, esta región de doble hélice que se forma en ambas hélices, sirve como sustrato o “iniciadores” para que la DNA polimerasa sintetice de manera análoga, copias nuevas de las dos hebras de DNA como lo hace *in vivo*, teniendo como molde las hebras originales. De esta forma, como resultado de un primer ciclo de amplificación, se obtienen dos dobles hélices idénticas a partir de una doble hélice. Para lograr una verdadera amplificación, la reacción se somete a varios ciclos alternos de calentamiento y enfriamiento para permitir el

funcionamiento de la enzima, de manera que el iniciador o *primers* utilizado sintetiza cadenas nuevas de DNA de manera exponencial (Bolívar, 2004).

La enzima DNA polimerasa es obtenida de un microorganismo termo resistentes o bien recombinante, enzima que no se desnaturaliza por calor, trabaja a altas temperaturas  $>72\text{ }^{\circ}\text{C}$  y resiste hasta  $93\text{ }^{\circ}\text{C}$ , propiedad que permite desnaturalizar el DNA de interés para ser polimerizado sin destruir la enzima, así se puede multiplicar el número de copias de un fragmento específico de DNA. Mediante esta técnica es posible aislar y amplificar genes específicos, si se tiene la secuencia de un fragmento de DNA, ya sea del propio gene o de una sección cercana al gene de interés (Bolívar, 2004). La PCR es utilizada para diferentes aplicaciones médicas como, la identificación de anomalías en la secuencia de nucleótidos en patologías, averiguar parentesco de un individuo, para diagnóstico de infecciones o para probar la eficacia de un tratamiento (Allende, 2000; Gallagher y Sai, 2010).

#### **2.1.2.2. RFLP's (Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción).**

Los marcadores RFLP fueron estudiados por primera vez hace más de 20 años en un experimento destinado a detectar mutaciones en el DNA de virus (Grodzicker *et al.*, 1974), posteriormente fue utilizado en el genoma humano (Botstein *et al.*, 1980). En poco tiempo, los marcadores se convirtieron en una importante herramienta en varias áreas de la biología.

Los marcadores más ampliamente utilizados en mejoramiento genético de plantas son los RFLP, sin embargo, en la actualidad se está utilizando en todo tipo de organismos. La técnica se basa en la hibridación de una secuencia clonada con fragmentos de secuencias homólogas distribuidas a lo largo del genoma, que lo hace apropiada para diversos estudios (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

La base genética de este marcador se debe a que el DNA de los individuos difiere en la secuencia de nucleótidos a lo largo de la cadena. La presencia o ausencia de secuencias específicas son cortadas por enzimas de restricción que identifican el polimorfismo, las inserciones, deleciones u otros arreglos (translocaciones, inversiones) que alteran la distancia entre pares de sitios de

restricción. Los fragmentos, producto de la digestión son separados por electroforesis en gel de agarosa al 3 o 4% (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Otra manera de realizar la detección de los marcadores RFLP, consiste en que los fragmentos separados en el gel de agarosa son transferidos a una membrana de nylon o (nitrocelulosa) por capilaridad o vacío de un proceso denominado "*Southern Blot*". Posteriormente, los fragmentos se fijan covalentemente a la membrana con alta temperatura en un horno al vacío o con luz UV. La visualización de fragmentos polimórficos entre los numerosos fragmentos transferidos a la membrana es posible con la hibridación de fragmentos clonados de DNA denominados sondas. Para la preparación de las sondas se incorporan nucleótidos que contienen moléculas de fósforo radioactivo o nucleótidos modificados en los fragmentos clonados del DNA. Después de la hibridación con sondas, la membrana se expone a una película de rayos X (Autorradiografía) revelando bandas que constituyen los marcadores RFLP (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

### **Ventajas de los marcadores RFLP's**

Cubren todo el genoma del organismo estudiado, aumentando la probabilidad de encontrar asociaciones entre estos marcadores y genes que controlan un carácter de interés. Se estima que una única población segregante es suficiente para analizar un gran número de caracteres a través de marcadores distribuidos por todo el genoma. Poseen expresión codominante, es decir, que en cada locus estudiado es posible identificar genotipos heterocigotos y homocigotos. Pueden ser utilizadas varias enzimas de restricción, las que combinadas con un número casi ilimitado de secuencias clonadas pueden generar una enorme cantidad de marcadores. Otra ventaja es la alta estabilidad del DNA, que puede ser extraído, conservado y reutilizado por largos periodos (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

**Limitaciones de los marcadores RFLP's.** Requieren mucha mano de obra, la falta de disponibilidad de una biblioteca de sondas, después de la obtención de sondas adecuadas (proceso de varios meses) es posible iniciar cualquier tipo de análisis genético con RFLP. Requiere personal técnicamente

habilitado para la manipulación del ADN recombinante, instalaciones adecuadas y desecho de materiales radioactivos (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

### **2.1.2.3. AFLP's (Longitud de fragmentos amplificados polimórficos)**

Técnica valiosa para generar huellas digitales, específicas y reproducibles tomadas de una muestra de DNA. Las huellas digitales pueden diferenciar individuos cuando el polimorfismo de DNA está presente en los fragmentos que generó. La técnica está basada en la amplificación por PCR de un subconjunto de fragmentos obtenidos de digestión de DNA genómico con enzimas de restricción. Primero el DNA es digerido con enzimas de restricción que generan extremos cohesivos y un adaptador de doble cadena es ligado al fragmento de DNA generando un templado para la amplificación. La secuencia de los adaptadores y el sitio de restricción adyacente, sirven como sitio blanco para el iniciador y la subsiguiente amplificación (Vos *et al.*, 1995).

Los AFLP han sido utilizados con éxito para generar un gran número de marcadores de DNA. La información sirve para análisis de distancias genéticas que permiten agrupar líneas, razas, etc (Plastow *et al.*, 2003).

El análisis de AFLP consta de cuatro etapas. En la primera el DNA genómico total del individuo es cortado con dos enzimas de restricción. En la segunda, se incorporan adaptadores específicos a los extremos de los fragmentos genómicos generados por la digestión enzimática. En la tercera etapa, una fracción de los fragmentos generados es amplificada selectivamente vía PCR utilizando "iniciadores" para reconocer las secuencias en los adaptadores y en la cuarta etapa, la subpoblación de fragmentos amplificados es separada en geles (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

**Las ventajas de los AFLP's.** Destacan en el gran número de fragmentos que se originan y se revelan en un único gel. Es una técnica eficiente para el muestreo amplio y simultáneo de un genoma una vez que se pueden obtener decenas de marcadores polimórficos. Tiene amplio poder de detección de variabilidad genética, explora el polimorfismo de presencia y ausencia de sitios de restricción similar al RFLP y la existencia o no de amplificación como en ensayo

RAPD, además esta presenta mayor robustez comparado con la técnica RAPD (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

**Las limitaciones.** Estas consisten en el bajo contenido de información genética por locus. Solo se detecta un alelo, o sea, el fragmento que se amplifica, las demás son consideradas como un alelo nulo. Otras limitaciones son: mayor cantidad de reactivos (enzimas de restricción, adaptadores e iniciadores específicos), mayor equipo de biología molecular, el DNA debe ser puro. Además, son necesarias etapas de digestión enzimática y de unión de adaptadores y la electroforesis se realiza en geles de poliacrilamida (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

#### **2.1.2.4. Microsatélites o SSR (Secuencias Simples Repetidas)**

Son secuencias sencillas repetidas, también denominados microsatélites y constituyen la clase más polimórfica de marcadores moleculares disponible, han sido utilizados en diversos organismos (humanos, ballenas, drosophila, ratones, bovinos y caprinos) y los elementos más frecuentes en mamíferos son extensiones de dinucleótidos CA y TG. En la actualidad, están siendo desarrollados para elaborar mapas genéticos para algunos cultivos anuales (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

La base genética de detección son secuencias sencillas repetidas y amplificadas individualmente a través de PCR por medio de un par de “iniciadores” específicos (20 a 30 pares de bases) complementarias a las secuencias únicas que flanquean al microsatélite. La detección de secuencias SSR vía PCR se realiza en geles de poliacrilamida o agarosa especial de alta resolución.

**Las desventajas de los microsatélites.** Teniendo en cuenta la expresión codominante y el multialelismo, es que los marcadores SSR son los que poseen el más elevado contenido de información de polimorfismo (PIC). Por esta razón, toda y cualquier población segregante puede ser utilizada como población de referencia de estudios de ligamiento y mapeo genético (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Se han observado que en genomas animales, los sitios microsatélites están bien conservados entre especies relacionadas, lo que permite la transferencia de

marcadores entre especies incluso entre géneros usando iniciadores heterólogos (Moore *et al.*, 1991).

#### **2.1.2.5. RAPD's (Amplificación Aleatoria de Polimorfismos de ADN)**

En 1990 fue presentado independientemente por dos equipos de investigadores, J. Welsh y M. McClelland. J. G. K. Williams y col. Welsh y McClelland denominaron el método "arbitrarily primed PCR" (AP-PCR) y señalan que en principio, puede ser aplicado para detectar polimorfismos (expresados como bandas separadas por electroforesis) en una amplia variedad de organismos usando diferentes iniciadores de secuencias arbitrarias. Por lo tanto el método no requiere de un conocimiento previo de biología molecular de los organismos que van a ser estudiados. Los iniciadores preferiblemente deben pertenecer a grupos estándar para facilitar la comparación de resultados entre laboratorios, para esta técnica se propone la utilización, en principio, de iniciadores ya conocidos utilizados para otros propósitos que tengan alrededor de 20 pares de bases. Se considera que este método es útil en programas reproductivos, mapas genéticos, genética de poblaciones y epidemiología (Xena, 2000).

Para elaborar mapas genéticos con los marcadores RAPD deben usarse líneas puras homocigóticas como parentales. Como aplicaciones del método RAPD, Williams y col. proponen la elaboración de mapas genéticos, aplicaciones reproductivas en plantas y animales y como productor de marcadores moleculares en estudios de genética de poblaciones.

Este método fue adoptado de inmediato por su simplicidad y bajo costo, no requiere de marcadores radioactivos y utiliza cantidades mínimas de DNA. El polimorfismo detectado puede deberse a un simple cambio de un par de bases, inserciones o deleciones (indels), que modifican o eliminan el sitio de inserción del iniciador; o también inserciones en la secuencia genómica que separan los sitios de inserción del iniciador a una distancia que no permite la amplificación (la distancia máxima de inserción de las dos copias del iniciador no deben exceder 2500 pb para lograr la amplificación del segmento). Las bandas generadas se

pueden clasificar de acuerdo a su intensidad de tinción (fuerte, mediana, débil) con bromuro de etidio, lo cual puede ser un reflejo de la especificidad de la amplificación (Xena, 2000).

Los marcadores RAPD se expresan como presencia o ausencia de un producto amplificado, lo cual se traduce en una pérdida de información si se les compara con marcadores heredados como "codominantes", como es el caso de las isoenzimas.

Para poder garantizar la reproducción de los resultados, al iniciarse un estudio con aplicación de este método, deben establecerse las condiciones óptimas en los dos pasos fundamentales del proceso: extracción y amplificación del DNA. Se ha sugerido que las sustancias contaminantes que se precipitan junto al DNA en el etanol son una de las primeras causas de la falta de reproductibilidad en los resultados, debido a que estos contaminantes pueden afectar la inserción efectiva del iniciador. Para evitar este inconveniente, se sugiere recuperar el DNA precipitado en etanol utilizando una varilla de vidrio y no por centrifugación. Muchos autores coinciden en que la reproducción de los resultados depende estrechamente de la uniformidad de las condiciones de amplificación entre los experimentos. También puede incrementarse seleccionando los iniciadores que producen resultados con un grado mayor de reproducción del patrón de bandas que generan. También se ha sugerido que el patrón resultante de una reacción RAPD está en parte determinado por la competencia que se establece entre los sitios del genoma donde puede anclar un determinado iniciador (Xena, 2000).

**Aplicaciones del método RAPD.** Detección de Híbridos. Debe observarse que los híbridos no poseen un patrón totalmente aditivo, lo cual es atribuido a la presencia de polimorfismo en las poblaciones parentales, pues la presencia de bandas marcadoras propias de los supuestos híbridos (aparte de las aditivas) complica en muchos casos la interpretación, pues en ese caso las bandas aditivas podrían interpretarse como heredadas de un ancestro común y no por un proceso de hibridación. Los marcadores RAPD también representan un sistema poderoso para identificar híbridos nucleares en hibridaciones somáticas y están siendo

utilizados como marcadores de hibridación introgresiva, como el caso del café (*Coffea* sp).

## 2.2. MORFOMETRÍA

La medición de las regiones externas de un animal se realiza mediante técnicas morfométricas que permiten estudiar y valorar indirectamente su estado fisiológico, ubicando al animal dentro de un grupo o raza específica y estimando sus valores o índices (Martínez, 2002).

### 2.2.1. Instrumentos de medición

Son varios los instrumentos utilizados para realizar mediciones en un animal (Figura 2), siendo más utilizados la cinta métrica, el bastón zoométrico, el compás de brocas o de gruesos, el calibrador o pie de rey y el goniómetro de Duerst (Sagaro *et al.*, 2007).



Figura 2. Instrumentos de medida para zoometría

### 2.2.2. Importancia de la Morfometría

Muchas de las variables morfológicas guardan una relación con las características reproductivas, reproductivas o de adaptación al ambiente. La expresión de caracteres fenotípicos cuantitativos, son indicadores de la adaptación de los animales al ambiente (Hintum, 1994). Mediante un sistema descriptivo de calificación morfológica continua se puede obtener la conformación funcional que permita determinar los mejores ejemplares de una raza.

### **2.2.3. Caracterización de razas**

Se han realizado muchos estudios para caracterizar razas bovinas en todo el mundo, principalmente desde el punto de vista zoométrico y genético; la primera se refiere al uso de medidas directas en el animal, para detectar defectos y cualidades que las hacen apropiadas para un sistema de producción; la segunda es usando de una batería de microsatélites de DNA recomendados por la FAO para estudios de biodiversidad bovina (Martínez *et al.*, 2005). Por otra parte, el uso de microsatélites ha permitido una correcta identificación de individuos para participar en empadres múltiples, con una alta confiabilidad (95%) estadística (Sifuentes *et al.*, 2006).

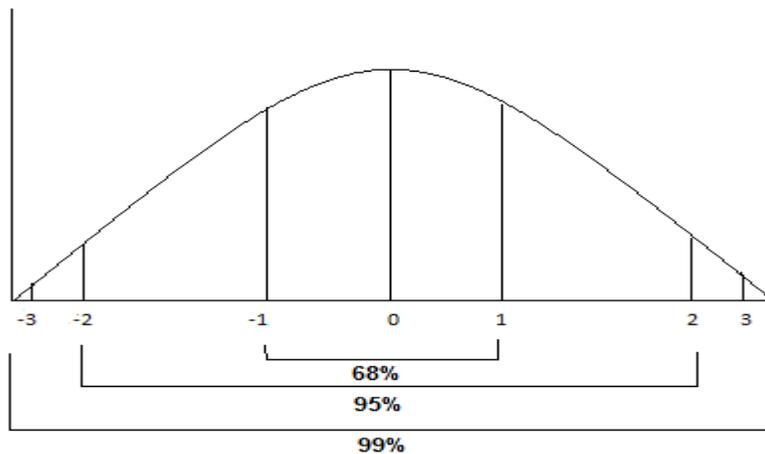
La contribución de genes involucrados en la expresión de un carácter se puede evaluar seleccionando genes candidatos, relacionados con la fisiología del carácter. Por ello, la selección de un gen candidato presupone que se entiende su relación con otros genes, maximizando su elección (Casas, 2006).

### **2.2.4. Evaluación lineal**

La calificación de un bovino se realiza mediante apreciación visual, donde los calificadores profesionales otorgan una puntuación al animal, considerando como la más alta aquella que se apega más al morfotipo de la raza, y la más baja la que se encuentra más alejada a la misma (Stamschorr, 2000). La importancia de juzgar a un animal radica en poder determinar sus cualidades y defectos, los cuales podrán corregirse en la futura progenie mediante cruzamientos correctivos, que permitan mejorar una característica poco deseable y volverla deseable.

Posada (1996) Menciona que las evaluaciones genéticas de los rasgos lineales de tipo, primero fueron calculados como Habilidad de Transmisión Predicha (HPT, en inglés PTA) similares a las características de producción y a la puntuación final. Para visualizar varios rasgos en una misma gráfica es necesario estandarizarlos y mostrarlos gráficamente. Lo anterior, permite comparar diferentes características de un mismo animal. Los rasgos lineales de tipo son más fáciles de comparar con los de HTP, siendo mayores en las características de alta heredabilidad. El rango de los valores STA (Standar Transmitting Ability) (Figura 3) es el mismo para todos los rasgos, 68% de los valores están entre -1.0 a 1.0 de

cualquier rasgo, 95% entre -2.0 a 2.0 y el 99% de todos los valores entre -3.0 a 3.0.



**Figura 3.** Rangos de valores de STA

El valor de STA igual a cero (0) representa el promedio de la raza para ese rasgo. El promedio de la raza se define como una vaca de cinco años de edad y ordeñada en el quinto mes de su tercera lactancia. Al conocer el STA de un toro o una vaca, se puede determinar qué tan extrema puede ser su progenie. Las características lineales de tipo pueden ayudar a criar un ható más redituable, seleccionando los mejores sementales. Es importante identificar los rasgos que nos interesan, fijar objetivos genéticos realistas para cada rasgo, seleccionar los mejores sementales y acumular avances genéticos a través de generaciones (Posada, 1996).

### **2.2.5. Descripción de las principales características de tipo de la raza Suizo Americano**

Para el juzgamiento de vacas Suizo Americano, se consideran cinco características principales de clasificación, sobre las cuales se basa el clasificador para llegar a una puntuación final de una vaca. Cada característica se divide en partes del cuerpo (Brown Swiss, 2008).

### 2.2.5.1. Puntos de observación en el juzgamiento

#### 1. Ubre =40%

Característica que recibe mayor énfasis en la tarjeta de puntuación, debido a la relación con la producción de leche y vida productiva de la vaca. Las características a considerarse son: profundidad, inserción anterior, inserción y ancho posterior de la ubre. Colocación, forma y tamaño de los pezones, surco intermamario, equilibrio y textura de la ubre.

#### 2. Movilidad =20%

Se evalúa la estructura y el movimiento de cascos, cuartillas y patas. Las características a considerarse son: Movimiento, ángulo del casco, patas traseras, patas delanteras, patas trasera vistas lateralmente, corvejón/jarretes, posición de la palomilla y cuartillas.

#### 3. Fuerza y sustancia =15%

Se evalúa la constitución del cuerpo y su equilibrio. Las características a considerarse son: *Fuerza* (Pecho, perímetro torácico, masa ósea y hocico) y *Mitad delantera* (Escápula y codos, espalda y tamaño).

#### 4. Calidad lechera=15%

Se evalúan las señales físicas de su habilidad lechera. Las características a considerarse son: Costillas, hueso, condición corporal y características raciales.

#### 5. Grupa=10%

Provee apoyo básico para una eficiencia reproductora, propicia una ubre sana, sólidas patas y pezuñas traseras. Las características a considerarse son: grupa, anchura de la palomilla o articulación coxofemoral, dorso y vulva.

Los puntos a observar se encuentran en los anexos.

### 3. LITERATURA CITADA

- Akers R, Bauman D y Capuco A (1981). Prolactin regulation of milk secretion and biochemical differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cow. *Endocrinology*.109: 23-30.
- Alipanah M; Alexandrovna K. L; and Veladimirovich R. G (2008). Kappa-casein and PRL-Rsal genotypic frequencies in two Russian cattle breeds. Department of Animal Science. University of Zabol. Zabol. Iran. *Arch. Zootec.* 57 (218): 131-138.
- Allende J (2000). Conferencia. Avances de la biología molecular. XXXV Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud. La Habana, Cuba. 17 al 19 de julio 2000. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. 1-15.
- Anónimo (2005). Enciclopedia de los Municipios de México. Estado de Chiapas. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Chiapas.
- Barendse W, Vaiman D, Kemp S. J, Sugimoto Y, Armitage S. M, Williams J. L, Sun A (1997) Medium-Density Genetic Linkage Map of The Bovine Genome. *Mamm. Genome* 8:21-28.
- Barroso A, Dunner S and Canon J (1999). A multiplex PCR-SSCP test to genotype bovine Beta-casein alleles A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>, B, and C. *Anim. Genet.* 30:322–323.
- Bedolla C. C y Ponce de L. M (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504 2008 Volumen IX Número 4.
- Ben-Jonathan N, Mershon J. L, Allen D. I, Steinmetz R. W (1996) Extrapituitary Prolactin: Distribution, Regulation, Functions, And Clinical Aspects. *Endocr. Rev.*, 17: 639-669.
- Bern H and Nicol C (1968). The comparative endocrinology of prolactin. *Rec. Prog. Horn. Res.*, 24: 682-720.
- Bern H (1975). Prolactin and osmoregulation. *Am. Zool.*, 15: 937-949.
- Bolivar Z. F. C (2004). Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna. Coordinación editorial: Rosa Campos de la Rosa. 1a edición: 711p.
- Booth J. M (1981). The importance of udder health in relation to milk quality improvement and control. *Milk Quality Improvement and Control*. Eds. J.D. Collins and J. Hannan. University College Dublin. pp. 1-11.
- Botstein D, White R. L, Skolnick M, y Davis R. W (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms.
- Braunschweig M, Hagger C, Stranzinger G, Puhan Z (2000). Associations between casein haplotypes and milk production traits of Swiss Brown Cattle. *J. Dairy Sci.* 86(6 ) 564-569.
- Brown Swiss Association (2006). All Rights Reserved Best when viewed with the latest. [www.brownswissusa.com](http://www.brownswissusa.com).
- Buskila D y Shoenfeid Y (1996). Prolactin, bromocriptine and autoimmune diseased. *Isr. J. Med. Sci.*, 32: 23-27.

- Casas E (2006). Aplicación de la genómica para identificar genes que influyen sobre características económicamente importantes en animales. U.S. Meat Animal Research Center, ARS, USDA, Clay Center, Nebraska. Arch Latinoam. Prod. Anim. Vol. 14 (1): 24-31.
- Chessa S, Budelli E, Gutscher K, Caroli A, Erhardt G (2003). Short Communication: Simultaneous Identification of Five k-casein (CSN3) Alleles in Domestic Goat by Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism. J. Dairy Sci. 86(11): 125-126.
- Chrenek, P., J. Huba, M. Oravcova, L. Hetenyi, D.Peskovieova and J. Bulla. 1998. Genotypes of bGH and b PRL genes in relationships to milk production. 50th Annual Meeting of the EAAP. Zuerich. Book of Abstracts. p. 40.
- Chung E. R, Kim W. T (1997). DNA polymorphism of prolactin gene in diary cattle. Korean J. Dairy Sci 19: 105–112.
- Collier R. J, McNamara J. P, Wallace C. R, Dehoff M. H (1984). A review on endocrine regulation of metabolism during lactation. J Anim Sci. 59: 495-510.
- Corva P. M (2005). Marcadores moleculares para el mejoramiento animal. Departamento de Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias UNMDP Revista Braford 21(54): 66-70.
- Cowan C. M, Dentine M. R, Ax R. L, Schuler L. A (1989). Restriction fragment length polymorphism associated with growth hormone and Prolactin genes in Holstein bulls: evidence for a novel growth hormone allele. Anim Genet. 20: 157-165.
- Cowan C. M, Dentine M. R, AX R.L and Scchuler L. A (1990). Structural variation around prolactin gene linked to quantitative traits in an elite Holstein sire family. Theor. Appl. Genet., 79: 577-582.
- Cunningham J.G. 1999. Fisiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2a.ed. p.549-558.
- Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, Szatkowska I, Sobek Z, Blaszczyk P, Czerniawskapia E, Zych S and Muszynska M (2005). Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black and White and Jersey cattle. Agriculture University of Szczecin, Departament of Ruminants Science, Poland. Arch. Tierz., Dummerstorf 48 (2005) 2, 149-156.
- Felmer R, Butendieck N (1998). Frecuencia alélica del gen de la k-caseína bovina en un rebaño Frisón Negro Chileno. Arch. Med. Vet. Vol. 30. Nº 2, p. 145-150.
- Fernández L, Méndez A, Guerra W, Suárez M. (2001). Estimación de curvas de lactancia estándar de la raza siboney para su utilización en extensiones de lactancias. Rev Cubana Cienc Agric.35:99-104.
- Ferreira M. E, Grattapaglia D (1998). Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. 1ª. ed. Brasilia: EMBRAPA-CENARGEN. pp.220.
- Formaggioni P, Summer A, Malcarne M y Mariani P (1999). Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in *bos genus*. In Line: <http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/index2.htm>. 14-07-2009.

- Gallagher, Chris J, Sai, A. J (2010). Biología molecular de la remodelación ósea: implicaciones para los nuevos blancos terapéuticos de la osteoporosis. *Rev Metab Óseo y Min*;8(2):60-71.
- Ginger M, Grigor M (1999). Comparative aspects of milk caseins. *Comp. Bioch. Phys. Part B*; 124:133-145.
- Goffin V, Bouchard B, Ormandy C, Welmann E, Ferray F and Touraine P (1998). Prolactin: A hormone at the crossroads of neuroinmunoendocrinology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 840: 498-509.
- Grodzicker T, Willians J, Sharp P and Sambrook J (1974). Physical mapping of temperature-sensitive mutations of adenoviruses. *Cold Spring Harbor Symp. Quant, Biol.* 39: 439-446.
- Grosclaude F (1988). Le polymorphisme genetique des principales lactoproteines bovines. Relations avec la quantite, la composition et les aptitudes fromageres du lait. *INRA Prod. Anim.* 1(1), 5-17.
- Grosvenor C y Whitworth N. (1974). Evidence for a steady rate of secretion of prolactine following sucking in the rat. *J. Dairy Sci.*, 57: 900-904.
- Hafez B (2000). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Ed. McGraw Hill, 7ª. ed. Pp.519.
- Hintum T.J.L (1994). Van. Drowning in the genepool: Managing genetic diversity in genebank collections (dissertation). Swedish University of Agricultural Sciences, Departaments of Plant Breeding Research; Sweden.
- Johnson M, Everitt B (1988). *Essential Reproduction*, 3rd ed. London, Blackwell Scientific.
- Kelly P. A, Djiane J, Postel-Vinay M. C, Edery M (1991). The Prolactin/Growth Hormone Receptor Family. *Endocr. Rev.* 12:235-251.
- Le Provost E, Leroux C, Martin P, Gafe P, Dijane J (1994). Prolactin gene expression in ovine and caprine mammary gland. *Neuroendocrinology* 60: 305-313.
- Lewin H. A, Schmitt K, Hubert R, Van E. M. J and Arnheim N (1992). Close linkage between bovine PRL-Rsa I and BoLA-DRB3 genes: genetic mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics*, 13: 44-48.
- Loretz C. A, Bern H. A (1982). Prolactin And Osmoregulation In Vertebrates. *Neuroendocrinology* 35: 292-304.
- Martínez A. M, Calderón E. J, Camacho E, Rico C, Vega P. J. L y Delgado J.V (2005). Caracterización genética de la raza bovina Mostrenca con microsatélites. Departamento de genética. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. *Arch. Zootec.* 54:357-361.2005.
- Martínez M. I (2002). Técnicas básicas de anatomía microscópica y de morfometría para estudiar los Insectos. Instituto de Ecología, A.C. Departamento de Ecología y Comportamiento Animal. Xalapa, Ver. México. *Aracnet 9 - Bol. S.E.A.*, 30: 187-195.
- Medrano J. F y Cordova E. A (1990). Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *Biotechnology.* 8:144-146.
- Méndez I, Cariño C, Díaz L (2005). La prolactina en el sistema inmunológico: aspectos de síntesis y efectos biológicos. Departamento de Biología de la Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. / *Rev. invest. clín.* v.57 n.3. ISSN 0034-8376.

- Meza N. M, González C. A, Becerril P. C, Ruiz L. F, Díaz R. P, Vallejo C. B (2010). Polimorfismo genético de la B-lactoglobulina en la leche de vacas Holstein y Criollo Lechero Tropical. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). *Agrociencia*. 44: 531-539.
- Mitra A, Schlee P, Balakrishnan C and Pirchner F (1993). Polymorphism at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *J. Anim. Breed Genet.*, 112: 71-74.
- Moore S. S, Sargeant L. L, King T. J, Mattick J. S, Georges M and Hetzel D. J. S (1991). The conservation of the dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species *Genomics* 10:654-660.
- Murai I, Ben-Jonathan N (1987). Posterior Pituitary Lobectomy Abolishes The Suckling-Induced Rise In Prolactin (PRL): Evidence For A PRL Releasing Factor In The Posterior Pituitary. *Endocrinol* 121: 205-211.
- Muysson J y Verrinder A (1989). The alteration of milk content by genetic engineering and recombinant DNA-mediated selection techniques. *Can. J. Anim. Sci.* 69(3):517-527.
- Neidhart M (1998). Prolactin in autoimmune diseases. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 217: 408-419.
- Orozco P. F (2001). Utilización de marcadores genéticos en estudios de razas de animales. su problemática. I.N.I.A. Área de Mejora Genética Animal. Apartado 8111. 28080 Madrid. España. *Arch. Zootec.* 50: 59-65. 2001.
- Plastow G, Siggins K, Bagga M; Brugmans B; Heuven H. and Peleman J (2003). Utilization of AFLP for genetic distance analysis in pigs. *Archivos de zootecnia.* 52: 157-164.
- Posada L. R (1996). Asociación Mexicana de Mejoramiento Genético, A.C. Holstein Association. Sire Summary Enero, 1996. México-Holstein.p.7-9.
- Postiglioni A, G. Rincón, L. Kelly, S. Lambí, G. Fernández, M. D Angelo, G. Gagliardi, J. Trujillo, M. de Bethencourt, K. Ghuevara, A. Castellano, M.V. Arruga. 2002. Biodiversidad genética en bovinos criollos del Uruguay. Análisis con marcadores moleculares. *Archivos de Zootecnia*, junio, año/vol.51, número 193-194. Universidad de Córdoba España. Córdoba, España. Pp. 195-202.
- Prinzenberg E, Hiendleder S, Ikonen T, Erhardt G (1996). Molecular genetic characterization of new bovine kappa-casein alleles CSN3F and CSN3G and genotyping by PCR-RFLP. *Anim. Gen*; 27:347-349.
- Russell D. H (1989). New Aspects Of Prolactin And Immunity: A Lymphocyte-Derived Prolactin Like Product And Nuclear Protein Kinase C Activation. *Trends Farmacol. Sci.* 10:40-44. Sinha YN (1995) Structural Variants Of Prolactin: Occurrence And Physiological Significance. *Endocrine Rev*, 16: 354-369.
- Sagaró Z. F, Rosales T. N y Prado F. E (2007). Estimado de peso vivo al nacer en terneros machos (M) y en vacas de más de dos partos de la raza santa Gertrudis. [www.ilustrados.com](http://www.ilustrados.com). Consultado el 3 de mayo del 2010.
- SAGARPA, [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx). (2009).
- SAGARPA. SIAP. [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx). (2008).

- Schlieben S, Erhardt G y Senft B (1991). Genotyping of bovine kappa-caseine following DNA sequence amplification and direct sequencing of kappa-caseine- E PCR product. *Animal Genetics*. 22: 333-342.
- Shennan D (1994). Regulation of water and solute transport across mammalian plasma cell membranes by prolactin. *Dairy Res.*, 61: 155-156.
- Sifuentes R. A. M, Gaspar M. P.B, De la Rosa R. X, Sánchez V. A, Serrano M. F y Rosales A. J (2006). Importancia de las pruebas de paternidad basadas en microsatélites para la evaluación genética de ganado de carne en empadre múltiple. *Tec Pec Méx*: 44(3): 389-398.
- Sinha Y. N (1995). Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocrine Review*, 16 (1995), 354-369.
- Stamschror J (2000). Judging Dairy Cattle. College of Agricultural, Food, and environmental Science, U of MN. Pp. 1-8.
- Uffo R. O, Sanz F. A y Martínez M. S (2000). Marcadores Moleculares en el mejoramiento y la genética animal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana, Cuba. Derechos Reservados EDICENSA. ISBN 959-7125-23-4. 94 p.
- Vos P, Hogers R, Bleekers M, Reijans M, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M. and Zbeau M (1995). AFLP: a new technique for ADN fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23(21): 4407-4414.
- Wallis M (1974). The primary structure of bovine PRL-Rsa I. *FEBS Lett.*, 44: 205-208.
- Xena de E. N (2000). Una década de aplicación del método RAPD: alcances y límites en el estudio de relaciones genéticas en plantas. Laboratorio de Biosistemática y Citogenética Vegetal, Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, U.C.V. *Acta Científica Venezolana*, 51: 197–206, 2000.
- Zhang H. M, DeNise SK, Ax R. L (1994). Diallelic single-stranded conformational polymorphism detected in the bovine Prolactin gene. *J Anim Sci*. 72: 256.

## CAPITULO I. POLIMORFISMO DEL GEN PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON PRODUCCIÓN DE LECHE EN GANADO SUIZO AMERICANO

**Edy Alfonso<sup>1</sup>, Reyna Rojas<sup>1</sup>, José G. Herrera<sup>1</sup>, César Cortez<sup>1</sup>, María E. Ortega<sup>1</sup>, Clemente Lemus<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Colegio de Posgraduados. Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería. Carretera México-Texcoco km 36.5. Montecillo, Estado de México. CP 56230.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.N, Nayarit, México.

### 1.1. RESUMEN

La estrategia moderna en la mejora de ganado lechero en el trópico mexicano, ha sido la identificación de genes o variantes alélicas, como el gen prolactina (PRL), que puede ser incorporado en los programas de selección. El objetivo de este estudio fue determinar el polimorfismo del gen prolactina y su relación con producción de leche en muestras de sangre de 417 vacas Suizo Americano en Chiapas, México. Los genotipos se determinaron mediante la técnica de PCR RFLP-Rsal, presentando un fragmento de 156 bp localizado en el exón 3. Las frecuencias alélicas en la raza estudiada fueron: A = 0.8765 y B= 0.1235. Las frecuencias genotípicas de AA, AB y BB fueron: 0.776, 0.174 y 0.026 respectivamente. La prueba de Chi cuadrada indicó que la distribución de frecuencias genotípicas no se encontraba en equilibrio Hardy Weinberg ( $P < 0.05$ ), y los hatos uno y cinco manifestaron una clara identidad genética con valor de 0.9731 y cuya distancia genética fue de 0.0273. Los resultados mostraron que las vacas con el genotipo AA tuvieron una mayor producción de leche por lactancia, en comparación con los genotipos AB y BB, siendo el genotipo BB el de menor producción ( $P < 0.05$ ). Se concluye que la identificación del polimorfismo de prolactina en esta población permitirá lograr una mayor eficiencia en la selección de reproductores.

**Palabras clave:** Suizo, prolactina, RFLP-Rsal, polimorfismo

## 1.2. ABSTRACT

The modern breeding strategy for milk cattle in the Mexican tropics has been the identification of genes or allele variants, like the prolactin gene (PRL) that can be incorporated into selection programs. The objectives of this study were to determine polymorphism in the prolactin gene and its relationship with milk production in blood samples from 417 American Swiss cows in Chiapas, Mexico. Genotypes were determined through PCR-RFLP-Rsal, presenting a 156 bp fragment located in exon 3. The allele frequencies in the studied breed were A= 0.8765 and B= 0.1235. Genotype frequencies of AA, AB, and BB were: 0.776, 0.174, and 0.026 respectively. The Chi-square test indicated that the distribution of genotype frequencies showed no Hardy Weinberg equilibrium ( $P < 0.05$ ), and herds one and five showed a defined genetic identity with a value of 0.9731, and a genetic distance of 0.0273. The results showed that the cows with the AA genotype had a greater milk production per lactation than did the AB and BB genotypes, being the BB genotype the one with the lowest production ( $P < 0.05$ ). It is concluded that identification of polymorphism of prolactin in this population will allow to achieve a greater efficiency in the selection of breeding stock.

**Key words:** Swiss, prolactin, RFLP-Rsal, polymorphism

## 1.3. INTRODUCCIÓN

El ganado Suizo Pardo ha sido la base de la rejeguería en Chiapas, México, como raza pura o en cruzamiento con los genotipos locales, debido a una buena eficiencia reproductiva, adaptación al calor, producción de leche y becerros pesados para engorda (Johnson y Vanjonak, 1976; Finch, 1986). Por ello, la mejora genética de los hatos locales se ha basado principalmente en la introducción de sementales de esta raza. Sin embargo, en la búsqueda de una mayor eficiencia en los planes de mejora genética, actualmente se realizan programas de identificación de genes o variantes alélicas en los hatos de cría, como la del gen prolactina (PRL), asociado con producción de leche y sus

componentes (Brym *et al.*,2005 y Ghasemi *et al.*,2009), mismo que al ser incorporado en los programas de selección asistida por marcadores en la región, hacen más eficientes los programa de mejora animal (Georges *et al.*, 1995; Grisart *et al.*, 2002).

La producción de leche es un fenómeno complejo en cuyo proceso intervienen hormonas de crecimiento, insulina, tiroxina y prolactina (Collier *et al.*, 1984), siendo esta última la de mayor importancia (Sacravarty *et al.*, 2008). En la producción y calidad de la leche, se han estudiado diferentes genes, como el receptor de prolactina situado en el cromosoma 20 (Viitala *et al.*, 2006); así como los genes B-lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina, Caseína  $\alpha$ S<sub>1</sub>, k-caseína, GH y PRL (Alipanah *et al.*, 2008; Veli *et al.*, 2008; Alipanah *et al.*, 2007; Dybus *et al.*, 2005; Ripoli *et al.*, 2003; Postiglioni *et al.*, 2002; Medrano y Córdova, 1990).

La prolactina (PRL) se encuentra involucrada en múltiples funciones biológicas relacionadas con la reproducción, osmoregulación, crecimiento tegumentario y sinergismo con esteroides (Barendse *et al.*, 1997) y es necesaria para la iniciar y mantener la lactancia, ya que actúa a nivel de alvéolos mamarios, promoviendo la síntesis y secreción de proteínas lactosa, lípidos y otros componentes importantes de la leche (Leprovost *et al.*,1994), regula funciones inmunológicas y participa en la diferenciación y crecimiento celular (Loretz y Bern, 1982), además actúa como molécula inmunomoduladora con efectos fisiológicos importantes, llegándose a considerar como una citocina (Méndez *et al.*, 2004). La molécula de PRL nativa puede estar unida a diferentes grupos, por lo que puede glicosilarse, dimerizarse, polimerizarse o ser hidrolizada para dar origen a distintas variantes (Méndez *et al.*, 2004). La secreción de PRL no difiere entre altas y bajas producciones de leche, sin embargo, algunos investigadores han encontrado incrementos en su metabolismo y distribución entre los 30 y 150 días de lactación (Collier *et al.*, 1984).

El gen de prolactina bovina se localiza en el cromosoma 23, consta de cinco exones y cuatro intrones, existe una mutación silenciosa A-G en el codón que codifica para el aminoácido 103 en el exón 3 del gen de prolactina bovina. La

técnica de RFLP (Fragmentos polimórficos largos de restricción) es utilizada para detectar pequeñas alteraciones que ocurren de forma natural en el genoma por cambios debidos a deleciones o inserciones de uno o más pares de nucleótidos (Lewin *et al.*, 1992 y Skinkyté, 2005). Es común utilizarla y para la determinación de la similitud entre poblaciones, es necesaria la estimación de sus distancias genéticas, definidas como la diferencia entre las frecuencias génicas para una característica en particular ([www.answer.com](http://www.answer.com)). Una manera de representar distancias genéticas es usando dendogramas, diagrama de datos en forma de árbol, los cuales permiten apreciar gráficamente las relaciones entre las poblaciones estudiadas.

El objetivo del estudio fue determinar el polimorfismo del gen prolactina mediante PCR- RFLP y relacionarlo con la producción de leche en una población de ganado Suizo Americano, localizada en la región tropical de Chiapas, México.

#### **1.4. MATERIALES Y METODOS**

Se tomaron 417 muestras de sangre en animales de la raza Suizo Americano: 264 vacas, 152 crías y un semental, provenientes de seis fincas lecheras de la región "Frailesca", Chiapas, México (Cuadro 1). Las muestras se obtuvieron de la vena caudal de los animales, en tubos vacutainer con anticoagulante EDTA (2.5 mg/2.5 mL de sangre) conservado a 4°C hasta su procesamiento. La extracción de ADN se realizó según la técnica de Miller *et al*, (1988) en el laboratorio de Biología Molecular del Colegio de Postgraduados (COLPOS), México.

Para la amplificación del gen prolactina mediante PCR se utilizaron un par de iniciadores específicos: Forward (5'-CGA GTC CTT ATG AGC TTG ATT CTT-3') y Reverse (5'-GCC TTC CAG AAG TCG TTT GTT TTC -3'). La mezcla de reacción de PCR estuvo compuesta por: 11.25 µl de dH<sub>2</sub>O, 2.5µl de Buffer 1X, 2.5 µl de MgCl<sub>2</sub>, 0.5µl de dNTPs, 0.25µl de Amplicasa de (Biogénica), 2.0µl de cada iniciador a 20 pmoles y 4.0 µl de ADN (50 ng ) todo esto en un volumen final de

25µl. Las reacciones se corrieron un termociclador TECHNE TC-512 con 30 ciclos de: desnaturalización 94°C/3 min, alineamiento 55°C/30 seg, extensión a 72°C/1 min y extensión final a 72°C/3 min.

**Cuadro 1.** Distribución de las muestras en las fincas estudiadas

Rancho	vacas	crías	semental	total
1	107	67		174
2	54	37		91
3	46	14		60
4	31	23	1	55
5	10	5		15
6	16	6		22
Total	264	152	1	417

Terminada la reacción se tomaron 5 µL de producto de PCR y se colocó en un gel de agarosa al 1% conteniendo bromuro de etidio, posteriormente se corrió la electroforesis a 80V durante una hora, después de este tiempo el gel se colocó y se visualizó en un transiluminador de luz ultravioleta Modelo Gel-Doc 2000, BIO RAD® y se analizó con el programa Quantity One 4.0.3. Para la obtención de los polimorfismos una vez que se verificó la presencia de una banda de 156 pb correspondiente al peso molecular del gen de prolactina, se procedió a realizar las digestiones con la enzima *RsaI* para lo cual se tomaron 15 µL del producto amplificado de cada una de las muestras procesadas y se colocó en un tubo de 0.5 mL conteniendo 2 µL dH<sub>2</sub>O, 2.5 µL de buffer de la enzima y 5 U o 0.5 µL teniendo como volumen final 20 µL. Esta mezcla fue digerida en una incubadora (BoekelScientific Mod. 133000) a 37°C por toda la noche.

Para verificar la digestión se tomaron 15 µL del producto de digestión y fueron separados por electroforesis en agarosa al 3% con SB 1X como buffer de corrida y bromuro de etidio, el marcador utilizado fue GeneRuller 50bp DNA ladder de Fermentas®.

La determinación de los genotipos de prolactina se basó en los protocolos descritos por Udina *et al.* (2001) y Mitra *et al.* (1995) con modificaciones.

Para establecer la relación entre polimorfismos del gen prolactina y la producción de leche, se estimó la producción total por vaca mediante muestreo periódico con intervalos de 14 días, con fecha fija dentro del mes durante 10 meses, la cual fue ajustada a 305 días usando factores de ajuste multiplicativos regionales (Ochoa, 1991). Los datos obtenidos fueron analizados con (SAS, 2002) con el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + \xi_{ijkl} \quad i= 1,2,3\dots t \quad j= 1,2,3\dots r \quad k= 1,2,3\dots l$$

donde:

$Y_{ij}$  = variable respuesta (producción de leche)

$\mu$  = media general.

$a_i$  = efecto de i-ésimo año de lactación ( $i= 1, \dots, 6$ )

$b_j$  = efecto del j-ésimo número de lactancia ( $j= 1, \dots, 6$ );

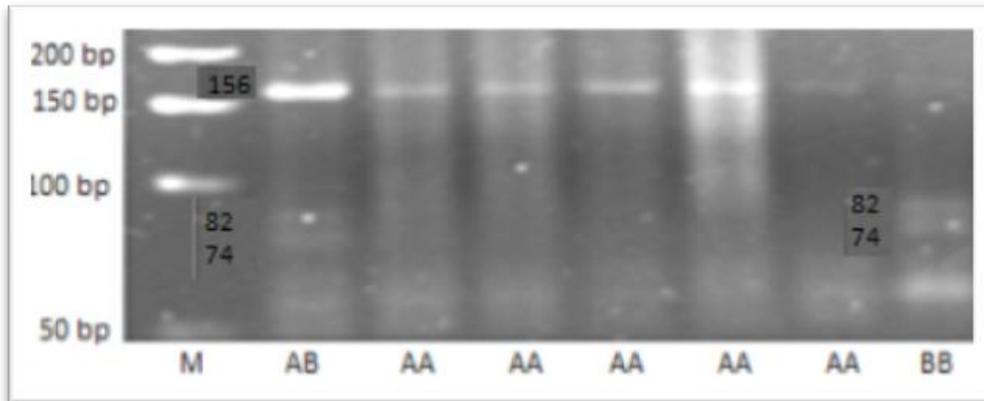
$c_k$  = efecto del k-ésimo *Prl-Rsal* genotype ( $k=AA, AB$  and  $BB$ );

$\xi_{ijkl}$  = error aleatorio  $\xi_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

Para calcular las frecuencias alélicas y genotípicas, equilibrio Hardy Weinberg, grado de heterocigocidad, índice de Shannon, distancias genéticas entre subpoblaciones animales y la construcción de dendogramas, se utilizó el programa *POPGENE* versión 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

## 1.5. RESULTADOS

Los iniciadores utilizados permitieron la amplificación de un fragmento de 156 bp correspondiente al gen prolactina. La digestión del fragmento amplificado con la enzima de restricción *Rsal* evidenció la presencia de tres genotipos: el AA sin digestión, obteniendo el fragmento de 156 bp, el AB con tres fragmentos de 156, 82 y 74 bp y el genotipo BB con dos fragmentos de 82 y 74 bp (Figura 1).



**Figura 1.** Fragmentos polimórficos del gen prolactina obtenidos con la enzima *RsaI* en gel de agarosa al 3% con bromuro de etidio. Carril 1). Marcador de peso molecular de 50bp, 2). Carril 2, genotipo AB, Carril 3-7 genotipo AA y carril 8 genotipo BB.

El genotipo más abundante fue el AA con 0.776, AB 0.174 y BB 0.026 (Cuadro2), el alelo con mayor frecuencia fue el A con 0.8765 y B 0.1235, el grado de heterocigocidad alcanzado fue 0.196, el índice de Shannon de 0.3762, rechazando la hipótesis de nulidad de existencia de equilibrio Hardy Weinberg ( $\chi^2$ ,  $P < 0.05$ ), lo cual puede ser atribuido a las características propias del manejo de las hatos estudiados, ya que en éstos se realizan apareamientos con semen y sementales traídos del exterior, además de la introducción continua de vaquillas y embriones para mejorar la calidad genética de los hatos, lo que trae como consecuencia un incremento en la probabilidad de que se presente recombinación genética de manera frecuente, además del efecto del ambiente.

Solamente, si la población es producto de una generación de apareamiento aleatorio de los individuos de la población original, esta estará en equilibrio HW para cada locus específico (Falconer, 1972). Las distancias genéticas entre los hatos 2, 3 y 4, 6, están estrechamente relacionadas, lo que indica una gran similitud entre las poblaciones, por lo que es de esperarse el comportamiento que tuvo el gen prolactina en este estudio.

**Cuadro 2.** Frecuencias génicas y alélicas del gen prolactina en ganado Suizo Americano de Chiapas, México.

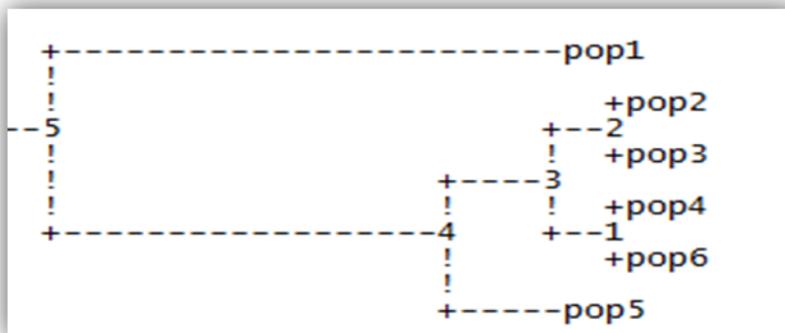
Locus	Genotipo	Ganado Suizo Americano de Chiapas, México				Heterocigosidad (Ho)
		Frec. genotípica	Frec. alélica	I* Shannon	Chi-square test HW test	
PRL	AA	0.776	(A)	0.3762	4.230563	0.1966
RFLP -RSal	AB	0.174	0.8765		Degree of freedom 1	
	BB	0.026	(B) 0.1235		Probability: 0.039702	

Por otro lado se encontró una distancia genética amplia entre los hatos uno y cinco con un valor de 0.0273 y una identidad genética de 0.9731 (Cuadro 3, Figura 2), siendo más estrechas las relaciones entre los hatos 4 y 6 con 0.9999 y 0.0001 de distancia genética y la relación entre los hatos 2, 3 y 6 presentaron valor de 0.9998 de identidad genética y de 0.0002 y 0.0007 de distancia genética.

**Cuadro 3.** Distancias genéticas entre hatos de ganado Suizo Americano de Chiapas, México

Hatos	1	2	3	4	5	6
1	****	0.9926	0.9900	0.9848	<b>0.9731</b>	0.9873
2	0.0074	****	0.9998	0.9986	0.9939	0.9993
3	0.0101	0.0002	****	0.9995	0.9959	0.9998
4	0.0154	0.0014	0.0005	****	0.9983	0.9999
5	<b>0.0273</b>	0.0061	0.0041	0.0017	****	0.9973
6	0.0128	0.0007	0.0002	0.0001	0.0027	****

Nei's identidad genética (diagonal superior) y distancia genética (diagonal inferior).



**Figura 2.** Dendrograma de los hatos estudiados de ganado Suizo Americano de Chiapas, México.

El hato uno, es diferente al resto de los hatos, debido a que este mostró una frecuencia más alta en los genotipos AB y BB, que puede ser consecuencia del tipo de cruzamientos o selección que se está realizando en esa explotación.

La estructura de las poblaciones se determinó con la prueba de Chi-square, encontrando diferencias entre grupos, consecuencia de la identificación de diferentes genotipos en las poblaciones estudiadas.

**Cuadro 4.** Genotipos de prolactina y su relación con producción de leche de una población de vacas Suizo Americano en Chiapas, México.

Ganado Suizo Americano de Chiapas, México		
Genotipos Prolactina	Muestras	Promedio Lactancia 305 <sub>d</sub> . (Kg)
AA	175	3251.57
AB	32	2789.91
BB	3	2603.79

El efecto del gen prolactina en la producción de leche mostró los mejores promedios para el genotipo AA con 3251. 57kg<sup>-1</sup> L, seguido por AB con 2789.91 y BB 2603.79 kg<sup>-1</sup> L (Cuadro 4), notándose una marcada diferencia entre el genotipo

AA con respecto a los otros, determinándose así la influencia del alelo A en la producción de leche, la cual puede deberse a la similitud del manejo de los programas de mejora genética enfocados principalmente a producción de leche.

## 1.6. DISCUSIÓN

De las variantes genóticas de prolactina obtenidas mediante la técnica RFLP-PCR con la endonucleasa *RsaI*, el genotipo AA tuvo la mayor frecuencia, lo cual es similar a los obtenidos por diversos investigadores en diferentes regiones del mundo, con diferentes razas y tamaño de muestra, reportando frecuencias genóticas de 0.47 a 0.96 en las razas Black & White, Red Pied, Jersey, Gorbатов Red, Ayrshire, Black Pied, Montebeliard, Sahiwal & Holstein Friesian (Kalashnikova *et al.*, 2009; Ghasemi *et al.*, 2009; Kumari *et al.*, 2008; Brym *et al.*, 2005; Khatami, 2005; Dybus *et al.*, 2005; Alipanah *et al.*, 2007; Skinkyté, 2005; Ripoli *et al.*, 2003 y Udina *et al.*, 2001); sin embargo, otros autores han reportado frecuencias bajas para el genotipo AA y frecuencias altas para el genotipo AB, con resultados de (0.65) en ganado Jersey, (0.62) en la raza Kankrej, (0.49) en Gyr y (0.62) en ganado Red Sindhi (Kumari *et al.*, 2008). En ganado Black & White Khatami (2005) encontró frecuencias de (0.47) y en la raza Yaroslavl (0.43) similar al genotipo AA.

Al analizar los genotipos favorables para producción de leche, existe controversia en los resultados de diferentes investigadores. En este estudio, se encontró que el genotipo AA tuvo el mejor promedio con 3251.57 kg<sup>-1</sup> L, resultado que suele ser semejante al reportado por Brym *et al.*(2005) en ganado Black & White y Ghasemi *et al.*(2009) con ganado Montebeliard, siendo favorable el genotipo AA. Por su parte, Dybus *et al.* (2005) encontraron que el genotipo favorable fue el AA para segunda y tercera lactancia y AB en la primera lactancia en ganado Jersey y los genotipos AA y AB para la raza Black &White. Sin embargo, otros autores han encontrado favorable el genotipo AB y BB para producción de leche (Alipanah *et al.*, 2008; Sacravarty *et al.*, 2008).

Otras características importantes relacionadas con los genotipos de PRL reportadas por otros autores es el conteo de células somáticas (SSC), relacionada con la presentación de mastitis subclínica, manifestándose favorable el genotipo BB, sin embargo este resultó negativo para el contenido de grasa en leche en ganado Yaroslavl (Brym *et al.*, 2005).

La heterocigosidad encontrada en este estudio en Suizo Americano, fue de 0.196 y la población no se encontró en equilibrio Hardy Weinberg. Este valor de heterocigosidad es similar al estimada por Skinkyté (2005) quien reportó un valor de 0.23 en la raza de ganado Black & Red, pero superior al de Ghasemi *et al.*(2009) de 0.15 en ganado Montebeliard. Valores de heterocigosidad mayores a los de este estudio, han sido encontrados por Kalashnikova *et al.* (2009) con 0.40 en ganado Black Pied; Brym *et al.* (2005) en ganado B & W con 0.038 y 0.33 en ganado Jersey; Alipanah *et al.* (2007) con 0.39 en ganado Red Pied Ruso y Dybus *et al.*(2005) con 0.28 en ganado Black & White y 0.43 en Jersey.

Las distancias genéticas encontrada en el estudio, relacionadas con el efecto del gen son notorias, principalmente entre las poblaciones uno y cinco, evidenciada por la presencia del genotipo BB en la población uno, ausente en la población cinco.

Las diferencias reportadas en diferentes estudios en relación a las frecuencias genotípicas asociadas con el gen prolactina y su efecto en la producción de leche, pueden atribuirse a diferencias entre razas y al número reducido de muestras analizadas ( $n < 50$ ) que no permite que los genotipos sean eficientemente representados (Brym *et al.*, 2005), no siendo el caso del presente estudio, donde el tamaño de muestra fue mayor ( $n > 400$ ).

Se concluye que la estructura de la población de ganado estudiada en el estado de Chiapas, es similar en sus características productivas, como consecuencia del uso de material genético de la misma procedencia y que la identificación del polimorfismo de prolactina en esta población permitirá lograr una mayor eficiencia en la selección de reproductores, considerando que esta

hormona lactogénica puede ser incluida en los programas de selección asistida por marcadores.

## 1.7. REFERENCIAS

- Alipanah M, Kalashnikova L, Rodionov G (2007). Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, I.R. Iran. All-Russian Research Institute of Animal Breeding, Moscow, Russia Department of Dairy Cattle Breeding, Faculty of animal science, Timiriazev Agricultural University, P.O. Box 127550, Moscow, Russia. Iranian Journal of Biotechnology, Vol. 5, No. 3, July 2007. 158-161.
- Alipanah ML, Alexandrovna K. and G. Veladimirovich R (2008). Kappa-casein and PRL-RsaI Genotypic Frequencies in two Russian Cattle Breeds. Department of Animal Science. University of Zabol. Zabol. Iran. 98615-538. Arch. Zootec. 57 (218): 131-138.
- Barendse W, Vaiman D, Kemp SJ, Sugimoto Y, Armitage SM, Williams JL, Sun A (1997) Medium-Density Genetic Linkage Map Of The Bovine Genome. Mamm. Genome 8:21-28.
- Brym P, Kamiński S, Wójcik E (2005). Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. Department of Animal Genetics, University of Warmia and Mazury, Olsztyn, Poland. J Appl. Genet 45(2), 2005, pp. 179-185.
- Collier RJ, McNamara JP, Wallace CR, Dehoff MH (1984). A review on endocrine regulation of metabolism during lactation. *J Anim Sci.* 59: 495-510.
- Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, Szatkowska I, Sobek Z, Blaszczyk P, Czerniawskapia E, Zych S and Muszynska M. (2005). Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black and White and Jersey cattle. Agriculture University of Szczecin, Department of Ruminants Science, Poland. Arch. Tierz., Dummerstorf 48 (2005) 2, 149-156.
- Falconer DS (1972). Introduction to Quantitative Genetics. Ronald Press, Co. New York. 365 p.
- Finch VA (1986) Body temperatura in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics. *J. Anim. Sci.*, 62:531-542.
- Ghasemi N, Zadehrahmani M, Rahimi G, Hafezian SH (2009). Associations between prolactin gene polymorphism and milk production in montebeliard cows. Genetic Department, Safayeh, Bouali Street, Research and Clinical Centre for Infertility, Yazd ShahidSadoughi Medical Sciences University,

Yazd, Iran. International Journal of Genetics and Molecular Biology Vol. 1 (3), pp. 048-051.

Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Mni M, Reid S, Simon P, Spelman R, Georges M and Snell R (2002). Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a Missense Mutation in the Bovine DGAT1 Gene with Major Effect on Milk Yield and Composition. *Genome Res.* 12: 222-231.

<http://www.answers.com/topic/genetic-distance>.

Johson HD and Vanjonack WJ (1976). Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. *J. Dairy Sci.*, 59:1603-1617.

Kalashnikova LA, Khabibrakhmanova YA, and Tinaev ASH (2009). Effect of Polymorphism of Milk Protein and Hormone Genes on Milk Productivity of Black Pied Cows All-Russian Pedigree Animal Breeding Research Institute, Moscow oblast, 141212 Russia. ISSN 1068-3674, Russian Agricultural Sciences, 2009, Vol. 35, No. 3, pp. 192–195.

Khatami SR, Lazebny OR, Maksimenko VF and Sulimova GE (2005). Association of AND polymorphisms of the growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black and White cattle. Vavilov Institute of general genetic Russian Academy of sciences, Moscow, Rusia. *Russian Journal of genetics.* Vol 41, No. 2, 2005, p. 167-173.

Kumari R, Singh K.M, Soni K.J, Patel R.K, Chauhan J.B and Kr. S, Sambasiva RAO (2008). Genotyping of the polymorphism within exon 3 of prolactin gene in various dairy breeds by PCR RFLP. *Biotechnology*, National Dairy Development Board, Anand-388 001, India. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 513, 298-299.

Le Provost E, Leroux C, Martin P, Gafe P, Dijane J (1994). Prolactin gene expression in ovine and caprine mammary gland. *Neuroendocrinology* 60: 305-313.

Lewin HA, Schmitt K, Hubert R, Van Erik M. J and Arnheim N (1992). Close linkage between bovine PRL-Rsa I and BoLA-DRB3 genes: genetic mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics*, 13: 44-48.

Loretz CA and Bern HA (1982). Prolactin And Osmoregulation In Vertebrates. *Neuroendocrinology* 35: 292-304.

Medrano JF y Córdova EA (1990). Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *Biotechnology.* 8:144-146.

Méndez I, Cariño C, Díaz L (2004). La prolactina en el sistema inmunológico: aspectos de síntesis y efectos biológicos. Departamento de Biología de la

Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México.

Miller SA, Dykes DD, Poletsky HF (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res* 16:1215.

Mitra A, Schelee P, Balakrishnan CR, Pirchner F (1995). Polymorphisms at growth-hormone and prolactin loci in Indian cattle and Buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 112 (1995), 71-74.

Ochoa GP (1991). Mejoramiento genético del bovino productor de leche. Departamento de Biogenética y Bioestadística. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. *Ciencia veterinaria* 5:1991 p. 70-72.

Postiglioni A, Rincón G, Kelly L, Lambí S, Fernández G, Angelo MD, Gagliardi G, Trujillo J, de Bethencourt M, Ghuevara K, Castellano A, Arruga MV (2002). Biodiversidad genética en bovinos criollos del Uruguay. Análisis con marcadores moleculares. *Archivos de Zootecnia*, junio, año/vol.51, número 193-194. Universidad de Córdoba España. Córdoba, España. Pp. 195-202.

Ripoli MV, Corva PM, Antonini A, De Luca JC, Rojas F, Dulout FN and Giovambattista G (2003). Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza criolla Saavedreña. Universidad de Córdoba España. *Archivos de Zootecnia*, vol. 52, número 197. p. 89-92

Sacravarty G, Vadodaria V P, Joshi CG, Brahmkshtri BP, Shah RR. and Solanki JV (2008). Prolactin Gene Polymorphism and its Association With Economic Traits in Kankrej Cattle. Veterinary College, Sardarkrushinagar Dantiwda Agricultural University, Sardarkrushinagar 385 506, Dist. Banaskantha, Gujarat, India. *IJDS*, 61,4.

SAS Institute Inc (2002). *SAS/STAT User's Guide: Version 9. 5a. ed.* SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Skinkytė R, Zwierzchowski L, Riaubaitė L, Baltrėnaitė L, Miceikienė K I (2005). Distribution of allele frequencies important to milk production traits in lithuanian Black & White and Lithuanian Red cattle. *Janušauskas Laboratory of Animal Genetics, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės g. 18, LT – 47181 Kaunas, Lithuania. VeterinarijairZootecnika. T. 31 (53). 2005. ISSN 1392-2130.*

Udina IG, Turkova SO, Kostyuchenco MV, Levedeva LA y Sulimova GE (2001). Polymorphism of Bovine Prolactin Gene: Microsatellites, PCR-RFLP. Vavilov Institute of general Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow 119991. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 37, No. 4, 2001, pp. 407-411. Translated from *Genetika*, Vol. 37, No. 4, 2001, pp. 511-516.

- Veli EA, Rivas SE, Rivas PV, Aquino Y y Estrada R (2008). Variabilidad genética del gen de beta-lactoglobulina en bovinos Criollos de Perú. Instituto Nacional de Investigación Agraria. INIA. Arch. Zootec. 57 (219): 341-344.
- Viitala S, Szyda J, Blott S, Schulman N, Lidauer M, Mäki-Tanila A, Georges M, Vilkki J (2006). The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Genetics*;173(4):2151-64.
- Yeh FC, Rong-cai Y, Tim B (1999). POPGENE VERSION 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta and Centre for International Forestry Research.

## CAPITULO II. POLIMORFISMO DEL GEN KAPPA CASEÍNA Y SU RELACION CON PRODUCCIÓN DE LECHE EN GANADO SUIZO AMERICANO

Edy Alfonso<sup>1</sup>, Reyna Rojas<sup>1</sup>, José G. Herrera<sup>1</sup>, María E. Ortega<sup>1</sup>, Clemente Lemus<sup>2</sup>, César Cortez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados. Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería. Carretera México-Texcoco km 36.5. Montecillo, Estado de México. CP 56230.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.N, Nayarit, México

### 2.1. RESUMEN

La aplicación de la biotecnología a la producción animal mediante la identificación de variantes alélicas relacionadas con la producción de proteínas lácteas como kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, favorables para mejorar la calidad de leche y el rendimiento en queso, en animales en etapas tempranas de su desarrollo, puede ser usada como criterio adicional a la selección basada en tipo y producción de leche en reproductores, maximizando la redituabilidad de las empresas ganaderas. Se realizó un estudio en la región tropical de Chiapas, México, en una población bovina Suizo Americano cuyo objetivo fue identificar frecuencias alélicas y genotípicas del gen kappa caseína y su relación con producción de leche. Se obtuvieron 113 muestras de sangre de 65 vacas y 48 crías. Para la determinación del gen se utilizó la técnica de PCR-RFLP utilizando primers específicos y para la digestión se utilizó la endonucleasa de restricción *HinfI*, presentando un fragmento de 350bp, localizado en el exón IV. Las frecuencias genotípicas fueron: AA=0.318, AB= 0.354 y BB= 0.327 y las alélicas: A=0.494 y B=0.505. Las vacas con el genotipo BB presentaron un mayor rendimiento en leche, seguido por el genotipo AB ( $P<0.05$ ). Se concluye, que la identificación del polimorfismo de kappa caseína en esta población permitirá una mayor precisión en la selección de reproductores y un mayor progreso genético en la producción de leche y rendimiento en queso.

**Palabras clave:** Kappa caseína, PCR-RFLP, Suizo, producción de leche

## 2.2. ABSTRACT

The application of biotechnology to animal production through the identification of allele variants related with the production of lactic proteins that favor milk quality and yield in cheese, such as kappa-casein and B-lactoglobulin, in animals in early stages of its development, can be used as an additional selection criterion to type and production of milk in breeding animals maximizing profitability of livestock operations. A study was conducted in the tropical region of Chiapas, Mexico, whose objective was to identify allele and genotype frequencies of the gene kappa casein and its relationship with milk production in American Swiss population. A total 113 blood samples were taken from 65 cows and 48 calves, from which DNA was extracted. Gene determination was realized through PCR-RFLP techniques using specific primers; digestion was done with restriction endonuclease (*HinfI*), showing a 350bp fragment, located in exon IV. The genotype frequencies were: AA = 0.318, AB = 0.354 and BB = 0.327 and the allele frequencies: A = 0.494 and B = 0.505. Cows with the BB genotype showed a greater milk yield, followed by the AB genotype ( $P < 0.05$ ). It concludes that the identification of the polymorphism of kappa casein in this population will allow greater precision in the selection of breeding stock and improve the milk and cheese production efficiency.

**Key words:** Kappa casein, PCR-RFLP, Swiss, milk production

### 2.3. INTRODUCCIÓN

La identificación de marcadores moleculares relacionados con una mayor producción y calidad de leche en vaquillas a temprana edad y en reproductoras, es una herramienta adicional en el proceso de selección, la cual se puede traducir en una mayor productividad del hato y en una reducción del intervalo entre generaciones. En la actualidad se conoce que los marcadores de prolactina y somatotropina, influyen en una mayor producción de leche (Mehmannavaz *et al.*, 2009; Ripoli *et al.*, 2003; Alipanah *et al.*, 2008) y la  $\beta$ -lactoglobulina y kappa caseína en su composición (Alipanah *et al.*, 2008; Veli *et al.*, 2008; Rojas *et al.*, 2009), por lo cual se recomienda incrementar la frecuencia de estos genotipos en las poblaciones de ganado bovino, mediante la identificación y selección de reproductores en los hatos.

El producto del gen de kappa caseína (K-CSN) es una molécula compuesta por 169 aminoácidos con dos variantes (A y B), que difieren en los aminoácidos 136 y 148, donde la posición 136 *Thr* (ACC) es cambiada por *Ile* (ATC) y la posición 148 *Asp* (GAT) por *Ala* (GCT) para A y B respectivamente (Neelin, 1964; Schmidt, 1964; Lin *et al.*, 1992). El cambio en la posición 148 es suprimido por un sitio con *Hinfl* con sitio de corte GANT↓C en la variante B, presente en la variante A. La kappa caseína es la más común de las caseínas y las variantes son sintetizadas diferencialmente en la glándula mamaria de animales heterocigotos (Debeljak *et al.*, 2000).

El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo del gen K-CSN en vacas y vaquillas de reemplazo de la raza Suizo Americano en Chiapas, México y relacionarlas con la producción de leche.

### 2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 113 muestras de sangre de 65 vacas y 48 crías de la raza Suizo Americano provenientes de seis ranchos de cría de animales de registro, inscritos en la Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Suizo, en la región tropical de Chiapas. Las muestras se obtuvieron por punción de la vena caudal utilizando tubos vacutainer con anticoagulante EDTA (2.5 mg/2.5 mL de sangre) y

procesadas en el Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular del programa de Fitopatología del Colegio de Postgraduados, México. La extracción de ADN se realizó siguiendo la técnica descrita (Miller *et al.*, 1988) con modificaciones. Para verificar la presencia del ADN, las muestras se corrieron en electroforesis en gel de agarosa al 1%, durante 60 minutos a 86 voltios, utilizando un volumen de 5  $\mu$ L de ADN y 2  $\mu$ L de buffer de carga, utilizando TBE 1X como buffer de corrida (Figura 1). Para la determinación de los genotipos de (K-CSN) se utilizó el protocolo descrito por Medrano y Córdova (1990).

Para localizar el gen K-CSN se amplificó un fragmento de ADN usando PCR con los primers: Forward: 5' ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG 3' y Reverse: 5' GCCCATTTTCGCCTTCTCTGTAACAGA 3' y se utilizó la siguiente mezcla de reacción: dH<sub>2</sub>O=19.125  $\mu$ l, 10xbuffer=2.5  $\mu$ l, 25mM MgCl<sub>2</sub>=1.5  $\mu$ l, 10mM dNTP=0.25  $\mu$ l, 10pmol Primers=0.25  $\mu$ l cada uno, Taqpolymerase 5UI=0.125  $\mu$ l y DNA a una concentración de (50ng aprox.)1  $\mu$ l, obteniendo un volumen final de 25 $\mu$ l. La reacción se procesó en un termociclador TECHNE TC-512 a 35 ciclos, desnaturalización 94°C/30seg; alineamiento 60°C/30seg; extensión 72°C/30seg y extensión final 72°C/5 min. La verificación de la presencia del gen K-CSN se realizó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando 5  $\mu$ l del producto de PCR, 2  $\mu$ l de buffer de carga, además de bromuro de etidio y TBE 1X como buffer de corrida. Al comprobar la presencia del gen, las muestras fueron preparadas para la digestión enzimática con HinfI, utilizando la siguiente mezcla de reacción: dH<sub>2</sub>O=4.65 $\mu$ l, Buffer NEB 2=2.25 $\mu$ l, HinfI=0.6 $\mu$ l (6 unidades) y producto de PCR=15  $\mu$ l, teniendo un volumen final de 20  $\mu$ l. La incubación se realizó en incubadora marca Boekel Scientific Mod. 133000 a 37°C por toda la noche. Después de haber finalizado la digestión, se verificó en gel de agarosa al 3% con bromuro de etidio y TBE 1X, posteriormente se colocó y visualizó en un transiluminador de luz ultravioleta Modelo Gel-Doc 2000, BIO RAD<sup>®</sup>, encontrando el polimorfismo del gen que consistió en la presencia de tres genotipos (AA, AB y BB).

El análisis estadístico consistió en estimar las frecuencias genotípicas, alélicas y equilibrio HW, las cuales se compararon mediante la prueba de Chi cuadrada.

La producción total de leche por vaca, se estimó mediante muestreos periódicos con intervalos de 14 días, con fecha fija dentro del mes, durante 10 meses, la cual fue ajustada a (305d,2x,EM), usando factores de ajuste multiplicativos regionales (Ochoa, 1991).

La información de producción de leche fue analizada con un modelo de dos criterios de clasificación sin interacción usando el PROC GLM de SAS (SAS Inst.Inc.,Cary,N.C.,2002). El modelo incluyó los efectos fijos de subclase hato-año-estación y genotipo de k-CSN y el efecto aleatorio de error.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + G_j + \varepsilon_{ijk} \quad i=1,\dots,6; \quad j=1,\dots, 3; \quad k=1,\dots, n;$$

donde:

$Y_{ijk}$  = producción de leche (305d, 2x,EM),

$\mu$  = media general,

$A_i$  = efecto de la subclase hato-año-estación,

$G_j$  = efecto del k-ésimo k-CN *Hinfl* genotipo (k=AA, AB y BB),

$\varepsilon_{ijk}$  = error aleatorio con media 0 y varianza  $\sigma^2$ .

## 2.5. RESULTADOS

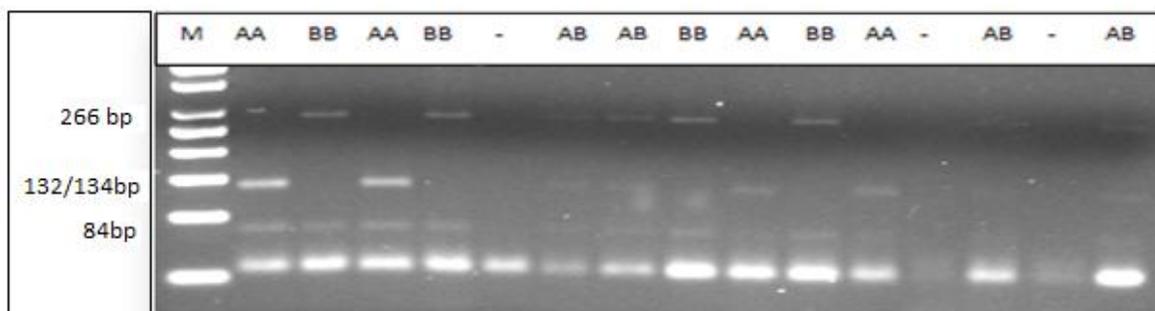
Usando los primers Forward: 5' ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG 3' y Reverse: 5' GCCCATTTGCCTTCTCTGTAACAGA 3' se amplificó un fragmento de 350bp, correspondiente al gen de K-CSN. El producto de la digestión con la endonucleasa de restricción *Hinfl* permitió diferenciar el polimorfismo del gen, mostrando el genotipo AA la presencia de dos bandas de 132/134 y 84bp, el genotipo AB con tres bandas de 266, 132/134 y 84bp y el genotipo BB con dos bandas de 266 y 84bp (Figura 1).

La frecuencia alélica del gen K-CSN en ganado Suizo Americano se presenta en el (Cuadro 1), siendo mayor para el alelo B con 0.505 y menor para el alelo A con 0.495, con 112 y 114 alelos respectivamente. El genotipo más abundante fue el AB con 0.354, seguido por el BB con 0.327 y AA con 0.318. Al analizar por separado los genotipos de vacas y crías, estos mostraron frecuencias genotípicas de 0.246, 0.4 y 0.353 para vacas y 0.416, 0.291 y 0.291 para crías, cuyas frecuencias alélicas fueron 0.446 y 0.554 para vacas y 0.562 Y 0.438 en las crías. El alelo A mostró la mayor frecuencia alélica en las crías y la menor para el alelo B, sin embargo, en vacas la mayor frecuencia fue para el alelo B.

**Cuadro 1.** Frecuencias genotípicas y alélicas del gen K-CSN en la raza Suizo Americano

Tipo de animales	(n)	GENOTIPOS			ALELOS	
		AA	AB	BB	A	B
Vacas	65	0.246	0.4	0.353	0.446	0.553
Leche kg L <sup>-1</sup>						
		3257.59	3281.95	3698.61	3265.71	3557.72
Crías	48	0.416	0.291	0.291	0.526	0.437
Población muestreada	113	0.354	0.327	0.318	0.495	0.505

El análisis de las vacas en producción mostró que el genotipo favorable para la producción de leche fue el BB con una producción estimada de 3698.61kg lactancia<sup>-1</sup> y, para los genotipos AB y AA fueron 3281.95 y 3257.59 kg lactancia<sup>-1</sup> respectivamente, notándose una superioridad de 292.01 kg lactancia<sup>-1</sup> del alelo B. Por otra parte, se encontró que la población muestreada se encuentra en equilibrio HW (Hardy Weinberg), probablemente por utilizar toros de inseminación artificial en común.



**Figura 1.** Fragmentos polimórficos de kappa caseína obtenidos con HinfI en gel de agarosa al 3% con bromuro de etidio. Carril 1). Marcador de 50 kb, 2). Carriles 2, 4, 10 y 12 genotipos AA, carriles 7, 8 y 16 genotipos AB y carriles 3, 5, 9 y 11 genotipos BB.

## 2.6. DISCUSIÓN

Las frecuencias alélicas y genotípicas, así como la heterocigocidad encontrada en la raza Suizo Americano son similares a lo reportado en diversas razas, años, y número de muestras en varias partes del mundo, encontrándose heterocigocidad en el rango de 0.345 a 0.58 en las razas Rubia Gallega, Pantaneiro, Criollo de Uruguay, Criolla Saavedreña de Bolivia, Criollo argentino, Holstein y Criollo limonero en Venezuela (Viana *et al.*,2001; Lara *et al.*, 2002; Postiglioni *et al.*,2002; Ripoli *et al.*,2003; Poli *et al.*,2005; Kalashnikova *et al.*, 2009 y Rojas *et al.*,2009). Sin embargo, Sulimova *et al.* (2007), analizando cinco razas de ganado Ruso (Bestuzhev, Kalmyk, Russian Black Pied, Yaroslavl, and Yakutbreeds), no observó heterocigocidad en ninguna de las razas y concluye que los marcadores de ADN basados en el polimorfismo del gen de K-CSN es recomendada como una importante práctica para determinar la calidad de la leche, de tal manera que el incluir en un hato toros con el alelo B el efecto se ve reflejado rápidamente en la siguiente generación, asegurando de esta manera la calidad y producción de leche de la población. Estudios realizados en toros de la raza Holstein, han reportado frecuencias del alelo B de 0.13 (Zadworny y Kuhnlein,1990); asimismo, otros investigadores informan de frecuencias de los alelos A y B de 0.16 a 0.30 en vacas Criollos, Cebú y Siboney de Cuba (Uffo *et al.*,2006). Estudios realizados en las razas Criollos de dos comunidades campesinas de Huashcao y Ticllos, Rivas *et al.* (2007) encontraron frecuencias

alélicas de 0.64 y 0.36; 0.50 y 0.50, para los alelos A y B respectivamente, manifestándose heterocigocidad alta en el ganado criollo de Ticllos y baja en el ganado de la comunidad de Huashcao. De igual forma, Alipanah *et al.* (2008) en las razas Berrenda negro y Berrendo rojo, reportaron frecuencias de 0.17 y 0.31 para el alelo B. Por otra parte, Solarte *et al.* (2009) utilizando la técnica PCR-SSCP encontraron una frecuencia de 0.20 para el alelo B y una heterocigocidad observada de 0.279.

Con respecto a la estimación del equilibrio Hardy–Weimberg (H-W), la mayoría de los estudios no han encontrado equilibrio H-W ( $P < 0.05$ ), resultados que difieren a este estudio, que aun cuando se estudió una población pequeña; debido a que el gen influye en ambas características deseables y que están relacionadas tanto en producción como para composición de la leche, beneficiando así el rendimiento de queso. Las diferencias pueden estar relacionadas con el QTL de rendimiento en leche, ocasionadas por programas de selección orientados principalmente a producción de leche, ignorando la calidad, por no existir incentivos económicos para incluirlas en dichos programas, además de usar un material genético de la misma procedencia en los diferentes hatos. En contraste, otro estudio realizado en ganado Suizo por Cervantes *et al.* (2007) en Veracruz, México, reportó que el alelo A fue más frecuente en la población estudiada sin establecer su relación con producción de leche.

## **2.7. CONCLUSIONES**

El gen de kappa caseína puede considerarse como un marcador molecular determinante en la producción de leche, motivo para ser considerado en los programas de selección asistida por marcadores moleculares.

El alelo B puede servir de referencia para mejorar la producción y calidad de la leche en la raza Suizo Americano, siendo deseable la introducción de sementales que posean este alelo.

## 2.8. REFERENCIAS

- Alipanah ML, Alexandrovna K. and G. Veladimirovich R (2008). Kappa-casein and PRL-RsaI Genotypic Frequencies in two Russian Cattle Breeds. Department of Animal Science. University of Zabol. Zabol. Iran. 98615-538. Arch. Zootec. 57 (218): 131-138.
- Cervantes P, Luna M, Hernández A, Pérez GF, Ponce P y Uffo O (2007). Polimorfismo genético en el locus de la kappa-caseína, en vacas de diferentes razas y cruces en el trópico mexicano. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. México. Rev. Salud Anim. Vol. 29 No. 2 (2007): 78-84.
- Debeljak SM, Su SR, Marin S, Logar Z, Medrano JF, Dove P (2000). Allelic differences in bovine kappa-CN gene which may regulate gene. Expression. Pflügers Arch. Eur. J. Physiol 439 [Suppl]: R4-R6 © Springer Verlag 2000.
- Kalashnikova LA, Khabibrakhmanova YA, and Tinaev AS (2009). Effect of Polymorphism of Milk Protein and Hormone Genes on Milk Productivity of Black Pied Cows All-Russian Pedigree Animal Breeding Research Institute, Moscow oblast, 141212 Russia. ISSN 1068-3674. Russian Agricultural Sciences, 2009, Vol. 35, No. 3, pp. 192–195.
- Lara MAC, Gama LT, Bufarah G, Sereno JRB, Celegato EML & de Abreu UP (2002). Genetic polymorphism at the  $\kappa$ -casein locus in Panteneiro cattle. Arch. Zootec. 51: 99-105.
- Lin CY, Sabour MP, Lee AJ (1992). Direct typing to milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: A review. Animal Breeding Abstracts. 60: 1-10.
- Medrano JF y Cordova EA (1990). Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. Biotechnology. 8:144-146.
- Mehmannavaz Y, Amirinia C, Mortaza B, and Rasoul VT (2009). Effects of bovine prolactin gene polymorphism within exon 4 on milk related traits and genetic trends in Iranian Holstein bulls. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. African Journal of Biotechnology Vol. 8 (19), pp. 4797-4801.
- Miller SA, Dykes DD, Poletsky HF (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucl Acids Res 16:1215.
- Neelin JM (1964). Variants of k-casein revealed by improved starch gel electrophoresis. J. Dairy Sci. 47:506-509.
- Ochoa GP (1991). Mejoramiento genético del bovino productor de leche. Departamento de Biogenética y Bioestadística. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. Ciencia veterinaria 5:1991 p. 70-72.
- Poli MA, Holgado FD, Rabasa AE (2005). Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes de CSN3 y Lactoglobulina B en un rodeo de bovinos Criollos en Argentina. Sitio Argentino de Producción Animal. Veterinaria, (Montevideo) 40 (159-160) 45-49.
- Postiglioni A, Rincón G, Kelly L, Lambí S, Fernández G, D Angelo M, Gagliardi G, Trujillo J, de Bethencourt M, Ghuevara K, Castellano A, Arruga MV (2002). Biodiversidad genética en bovinos Criollos del Uruguay. Análisis con

- marcadores moleculares. Archivos de Zootécnia, junio, año/vol.51, número 193-194.
- Ripoli MV, Corva PM, Antonini A, De Luca JC, Rojas F, Dulout FN and Giovambattista G (2003). Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza Criolla Saavedreña. Universidad de Córdoba España. Archivos de Zootécnia, vol. 52, número 197. Pp. 89-92.
- Rivas E, Veli E, Aquino Y, Rivas V, Pastor S & Estrada R (2007). Acciones para la caracterización y conservación del bovino Criollo Peruano (*Bos taurus*). Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria, INIEA. AGRI. 40: 33-42
- Rojas I, Aranguren MJ, Portillo M, Villasmil OY, Valbuena E, Rincón X, Contreras G y Yañez L (2009). Genetic Polymorphism of Kappa-Casein in Creole Limonero Bovine. Unidad de Investigación en Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIX, Nº 6, 645 – 649.
- SAS Institute Inc (2002). SAS/STAT User's Guide: Version 9. 5a. ed. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Schmidt DG (1964). Starch gel electrophoresis of k-casein. Biochim. Biophys. Acta 90:411-414.
- Solarte PCE, Rosero CY, Eraso JM, Zambrano GL, Cárdenas H y Burgos WO (2009). Frecuencias alélicas del gen Kappa caseína en la raza Holstein del trópico alto de Nariño, Colombia. Facultad de Ciencias Pecuarias. Grupo de Investigación "Producción y Sanidad Animal" LivestockResearchfor Rural Development 21 (1).
- Sulimova GE, AhaniAzari M, Rostamzadeh J, Mohammad AMR and Lazebny O. E (2007). K -Casein Gene (CSN3) Allelic Polymorphism in Russian Cattle Breeds and Its Information Value as a Genetic Marker. Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia. ISSN 1022-7954, Russian Journal of Genetics, Vol. 43, No. 1, pp. 73–79. DOI: 10.1134/S1022795407010115.
- Uffo O, Martín BI, Martínez S, Ronda R, Osta R, Rodellar C y Zaragoza P. (2006). Caracterización genética de seis proteínas lácteas en tres razas bovinas cubanas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), San José de las Lajas, La Habana, Cuba. AGRI 2006, 39: 15-24.
- Veli EA, Rivas SE, Rivas PV, Aquino Y y Estrada R (2008). Variabilidad genética del gen de Beta-lactoglobulina en bovinos Criollos de Perú. Instituto Nacional de Investigación Agraria. INIA. Arch. Zootec. 57 (219): 341-344.
- Viana JL, Fernández A, Iglesias A, Sánchez L y Becerra J (2001). Analysis by PCR-RFLP of the most frequent k-casein genotypes in RubiaGalega cattle breed. Centro de Reproducción Animal de Lugo. Arch. Zootec. 50: 91-96. 2001.
- Zadworny D and Kuhnlein U (1990). The identification of the kappa-casein genotype in Holstein dairy cattle using the polymerase chain reaction. Department of Animal Science, Macdonald College of McGill University, Ste. Anne de Bellevue, Quebec, Canada, Canada H9X 1C0. Theor Appl Genet. 80:631-634.

## **CAPITULO III. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE VACAS SUIZO AMERICANO EN UNA REGIÓN TROPICAL DE CHIAPAS, MÉXICO**

### **Morphometric characterization of American Brown Swiss cows in a tropical region of Chiapas, Mexico**

Edy Alfonso Ruiz<sup>a</sup>, José G. Herrera Haro<sup>a</sup>, Clemente Lemus Flores<sup>b</sup>, María Esther Ortega Cerrilla<sup>a</sup>, César Cortez Romero<sup>a</sup>, Jorge Pérez Pérez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Programa de Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería, Colegio de Postgraduados, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Edo. de México CP 56230. <sup>b</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.N. Tepic, Nayarit, México.

### **3.1. RESUMEN**

Con el objeto de caracterizar morfológicamente la raza Suizo Americano en condiciones de trópico, se realizó un estudio en la región Frailesca, Chiapas, México, seleccionando cinco hatos con 272 vacas en producción, registradas en la Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Suizo. En cada animal se midieron 29 rasgos de tipo, su producción de leche y peso corporal. La producción de leche por lactancia fue estimada mediante pesada mensual con fecha fija de muestreo y ajustada a 305 d. La información fue analizada usando SAS (SAS, 2003), con un modelo de efectos fijos con covarianza y se estimaron las medias de mínimos cuadrados. Posteriormente se realizó un análisis multivariado de componentes principales (ACP) para reducir el espacio de dimensiones del conjunto de variables y con el subconjunto seleccionado se realizó un análisis clúster, definiéndose cuatro morfotipos, perfectamente diferenciados. Además, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre variables de tipo y estas con producción de leche y peso corporal. Los resultados mostraron que 70 % de la variación en los rasgos morfológicos es explicada por seis variables, cuyas medias fueron: peso corporal (PC)  $519.23 \pm 4.0$  kg, perímetro torácico (TOX)  $187.3 \pm 0.6$  cm, alzada a la cruz (ACR)  $137.4 \pm 0.3$  cm, perímetro abdominal (ABD)  $203.4 \pm 0.8$  cm, profundidad corporal (CORP)  $231.8 \pm 0.9$  cm y perímetro pata anterior (PPA)  $19.5 \pm 0.1$ . Las correlaciones entre variables de tipo y producción de leche fueron bajas ( $r < 0.23$ ) y

significativas ( $p > 0.05$ ), no así con peso corporal cuyos coeficientes de correlación fueron superiores a 0.70 ( $P < 0.01$ ). Mediante el análisis clúster se clasificaron a las vacas en cuatro tipos distintos, con poca variación dentro de ellos. Se concluye que en las condiciones del trópico mexicano, las seis variables seleccionadas por el ACP pueden ser usadas para definir morfotipos de ganado Suizo Americano.

**Palabras Clave:** Morfometría, Pardo Suizo, trópico, análisis multivariado.

### 3.2. ABSTRACT

About 272 cows having four or more lactations of five herds from the Mexican Association of Brown Swiss Breeders at the Mexican tropical region called "Frailesca, Chiapas", were scored morfometrically. In each cow 29 type traits, milk production and corporal weight were measured. Milk production was estimated by monthly sampling with fixed date and 305 d adjusted lactation length. Least square means (LSM) of type traits were estimated using a fixed effects model with covariance and Multivariate Analysis of Principal Components (ACP) reduced the dimensional space of variables. Using the selected subset of trait types a Pearson Correlation Analysis it was carried out and type traits were related with milk production and body weight. Afterwards two groups or morphotypes was defined using Cluster Analysis. The information was analyzed using SAS (SAS Inc., 2003). Six type traits accounted for 70% of the total variation. The estimated LSM were: body weight (PC)  $519.23 \pm 4.0$  kg, heart girth (TOX)  $187.3 \pm 0.6$  cm, withers height (ACR)  $137.4 \pm 0.3$ , abdominal perimeter (ABD)  $203.4 \pm 0.8$  cm, body depth (CORP)  $231.8 \pm 0.9$  cm and front legs perimeter (PPA)  $19.5 \pm 0.1$ . The Pearson correlations coefficient between type traits and milk production were low ( $r < 0.23$ ) and significant ( $p > 0.05$ ), but type traits with with body weight were high (0.70,  $P < 0.01$ ). The Cluster Analysis analysis grouped the cows in two morphotypes. It is concluded that six selected traits can be used to define type groups of Brown Swiss Cows, under mexican tropical environment.

**KEY WORDS:** Morphometric, Brown Swiss cows, mexican tropics, Multivariate analysis.

### 3.3. INTRODUCCIÓN

En México, las asociaciones de ganado lechero de razas puras basan sus programas genéticos y de manejo en la evaluación mensual de producción de leche y tipo del animal y proponen sementales de inseminación artificial (I.A) como candidatos a aparear determinadas vacas, para incrementar producción de leche y corregir rasgos de tipo que pudieran acentuarse en la progenie. Además, la evaluación de rasgos morfométricos en una población de vacas permite establecer su similitud o discrepancia con el tipo ideal de una raza (Van Vleck *et al.*, 1969) y asocia algunos rasgos con la vida productiva de la vaca y con su valor comercial. Generalmente se establecen premisas, no fácil de comprobar, que indican que algunos rasgos se relacionan directamente con una mayor producción de leche, conformación más adecuada para la reproducción o que propician una mayor vida productiva (Specht *et al.*, 1967) y se utilizan para propósitos de selección. En este proceso de escoger las mejores hembras, basado en características fenotípicas, frecuentemente se supone una correlación positiva entre la forma externa del animal y la variable de respuesta, sin embargo, la mayoría de estudios previos muestran bajas correlaciones entre características de tipo y vida productiva en el hato (Specht *et al.*, 1967; Norman and Van Vleck, 1972); evidenciando que la producción de leche es el factor más importante en la longevidad de una vaca (Miller *et al.*, 1967) pero Berger *et al.* (1973) reportaron que las características de tipo son importantes para determinar la vida productiva de una vaca. Pero Berger *et al.* (1973) reportaron que algunos rasgos de tipo presentan correlaciones de 0.35 a 2.94 importantes para determinar la producción y largo vida en el hato.

Las técnicas morfométricas usadas para la evaluación de un animal permiten conocer el estado funcional de órganos implicados en la reproducción y valorar indirectamente su estado fisiológico (Martínez, 2002). Sin embargo, la morfología externa del animal puede modificarse con la edad o con el ambiente natural en que se desarrolla y produce (Norman & Van Vleck, 1972), siendo necesario considerarlos al realizar estudios regionales y establecer morfotipos. Erb and Ashworth (1961) encontraron una asociación entre el tamaño y peso corporal con una mayor producción de leche, señalando además que vacas más grandes

producen más leche que vacas pequeñas y que un menor perímetro torácico se asocia con una mayor producción (Sieber, *et al.*,1988). Sin embargo, las investigaciones de Wilk *et al.* (1963) evidenciaron el escaso valor que tienen las medidas corporales de un animal para predecir producción de leche. La edad y la fase de lactancia influyen en la estructura corporal de una vaca, cuyo desarrollo de la ubre y talla corporal presenta cambios menores en los primeros dos meses de lactación y ello debe ser considerado en las evaluaciones de tipo (Norman and Van Vleck, 1972b).

Para el juzgamiento del ganado, la asociación de razas lecheras puras en USA (Judging Dairy Cattle) agrupa las características de tipo en cinco categorías: estructura, carácter lechero, capacidad corporal, ubre, patas y pezuñas (Stamschorr, 2000) las cuales incluyen los rasgos siguientes: estatura, fortaleza, profundidad corporal, tipo lechero, ángulo y ancho de la grupa, patas traseras vista posterior y lateral, ángulo de pezuñas, inserción anterior, altura, ancho posterior, ligamento medio y profundidad de ubre, colocación y longitud de los pezones (Brown Swiss, 2006).

Para caracterizar la estructura de una población (Kobrich *et al.* (2003), conocer su productividad (Caballero, 2001) o estimar indicadores técnico-económicas (Milán *et al.* (2003) es común usar métodos estadísticos exploratorios de tipo multivariado, que permiten además la agrupación en morfotipos, los cuales son esenciales para definir el manejo genético apropiado de una raza pura, realizar su identificación racial y mejorar algunos rasgos de tipo que puedan influir en su vida productiva.

Los objetivos del presente estudio fueron: (a) realizar una descripción morfométrica de la raza Suizo Americano en el Trópico, basada en una muestra de vacas en producción; (b) determinar los rasgos de tipo que explican el mayor porcentaje de variación en la población de vacas y sus correlaciones entre ellas y con producción de leche y peso corporal, y (c) usar el Análisis de Componentes Principales y Conglomerados para definir morfotipos de Suizo Americano en la región tropical de La Frailesca, Chiapas, México.

### 3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio.** La investigación se realizó en la región Frailesca del estado de Chiapas, México, ubicada entre los 15° 33' y 16° y 32' latitud norte, 92° 21' y 93° 40' longitud oeste, con precipitación y temperatura media anual de 1,100 mm y 25 °C, lluvias en verano de mayo a octubre, temperatura mínima de 18 °C y máxima de 27 °C (INEGI, 1990).

**Colección de datos y descripción.** Producción de leche, peso corporal y 29 medidas morfométricas fueron obtenidas de 272 vacas, cuya condición corporal varió de 3.0 a 3.5, ubicadas en cinco hatos inscritos en la Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Suizo de Registro. Las mediciones zoométricas fueron realizadas entre 30 y 60 días posparto con cinta métrica, bastón zoométrico, calibrador (Vernier) y báscula, siguiendo lo establecido por las asociaciones de juzgamiento de ganado lechero (Hansen & Mudge, 1983; Sieber *et al.*, 1988, Vij *et al.*, 1990). Las medidas fueron tomadas en animales en ayuno, después de la ordeña de la mañana, los cuales fueron ubicados en piso plano y horizontal, bien apoyado sobre sus cuatro extremidades y sosteniendo la cabeza en alto. La producción de leche fue evaluada mediante muestreo mensual con fecha fija y ajustada a 305 días. Las variables morfométricas fueron medidas en centímetros y el PV y PL en kg.

Las variables evaluadas fueron clasificadas según: a) estructura, b) carácter lechero, c) capacidad corporal, d) patas y pezuñas y, e) ubre (Dairy cow unified score card, 1994) las cuales se describen en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Clasificación de variables morfométricas usadas en vacas de raza Suizo Americana (Dairy cow unified score card, 1994).

Clasificación	Rasgos de tipo
<b>1. Estructura</b>	<b>Estatura.</b> alzada a la cruz (ACR), alzada al íleon (AIL), altura al pecho (APE), <b>Grupa.</b> Ángulo de anca (ANGA), ancho de anca (ANCA), ancho de grupa (ANGRU), largo de grupa (LGRUP).
<b>2. Carácter lechero</b>	<b>Costillas.</b> Espacio intercostal izquierdo (COS). <b>Cuello.</b> Largo de cuello (CUE), , largo de cabeza (LCA), ancho de cabeza (CAB), largo de orejas (LOR) y largo de cola (COL).
<b>3. Capacidad corporal</b>	<b>Barril.</b> Profundidad corporal (CORP) largo del cuerpo (LCU), perímetro torácico (TOX), perímetro abdominal (ABD). <b>Pecho.</b> Ancho de pecho (PECH).
<b>4. Patas y pezuñas</b>	<b>Patas.</b> Altura al corvejón (ACOV), altura al codo (COD), largo pata anterior (LPA), perímetro pata posterior (PPP), perímetro pata anterior (PPA). <b>Pezuñas.</b> Ángulo de pezuñas (AP).
<b>5. Ubre</b>	<b>Dimensiones.</b> Profundidad de la ubre (PUB), altura de la ubre posterior (AUP), ancho de la ubre posterior (ANUP). <b>Soprote.</b> Ligamento medio (LM). <b>Tetas.</b> Largo del pezón (LPZ).

**Análisis estadístico.** La información fue analizada usando los procedimientos GLM, ACP y CLUSTER del programa SAS (SAS, 2003). Se realizó un análisis de varianza de las 29 medidas morfométricas evaluadas, usando un modelo de efectos fijos de un solo criterio de clasificación, con número de parto (NP) como variable de clase y PC como covariable. Se obtuvieron las medias de mínimos cuadrados por parto y se compararon mediante una prueba de Tukey ajustada. Posteriormente, se realizó un análisis exploratorio multivariado de Componentes Principales, basado en el conjunto de variables morfométricas y se obtuvo un subconjunto de seis variables que explicaban más del 70 % de la variación en el morfotipo de la población animal, estimando además los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables seleccionadas y estas con producción de leche y peso corporal. Con base al subconjunto de variables definidas por el ACP se realizó un análisis de agrupamiento (Clúster), usando un

método no jerárquico de agrupamiento de k-medias basado en la distancia euclidiana, obteniendo tres conglomerados relacionados con la tipología del ganado Suizo Americano en la región tropical de Chiapas, México (Köbrich *et al.*, 2003).

### **3.5. RESULTADOS**

#### **Descripción morfométricas de la raza Suizo Americano**

La caracterización morfométrica de una muestra de 272 vacas Suizo Americano en el trópico, se presentan en forma general y por lactancia, además de las medias de mínimos cuadrados y errores estándar de 29 rasgos corporales externos, peso vivo y producción de leche, en la región Frailesca, Chiapas, (Cuadro 2). Estas medidas son importantes para establecer una base de comparación de esta raza en el trópico con la raza Suizo Americano en otras latitudes, conocer el parecido o discrepancia con el tipo ideal de la raza y evidenciar rasgos de tipo que pudieran afectar su vida productiva. En general, los rasgos estudiados son muy homogéneos entre lactancias ( $P > 0.05$ ) lo que permite suponer que la raza presenta características bien definidas y las condiciones ambientales afectan de similar manera a todos los hatos sin importar el tipo de manejo. Únicamente producción de leche (PL), peso corporal (PC) y seis rasgos morfométricos: ACR, LPZ, AIL, APE, LCA y CUE mostraron diferencias ( $P < 0.05$ ) entre lactancias, siendo las vacas de primer lactancia las que presentaron valores menores con respecto a las lactancias subsecuentes. Las medias generales representan el morfotipo estándar de la raza en esta región del trópico mexicano. La clasificación por número de parto resulta ser más adecuado por tratarse de una sola raza, que si se consideran por hatos o características totales.

**Cuadro 2.** Medias de Mínimos Cuadrados  $\pm$  errores estándar de producción de leche, peso corporal y características morfométricas de vacas Suizo Americano según número de lactancia.

Variable-descripción	( $\bar{X} \pm EEM$ )	Número de lactancia( $\bar{X} \pm EEM$ )				P>F
	n	1	2	3	4	
	272	n=45	n=43	n=74	n=110	
Producción de leche (PL)	3118 $\pm$ 53	2857 $\pm$ 62	3150 $\pm$ 51	3179 $\pm$ 56	3300 $\pm$ 85	0.05
Peso corporal (PC)	519.2 $\pm$ 4	484.0 $\pm$ 11	527.9 $\pm$ 11	516.7 $\pm$ 7	527.9 $\pm$ 6	0.05
<b>1. Estructura</b>						
Alzada a la cruz (ACR)	137.4 $\pm$ 0.3	137.8 $\pm$ 0.7	139.2 $\pm$ 0.6	137.3 $\pm$ 0.5	136.4 $\pm$ 0.4	0.05
Alzada al ílion (AIL)	138.5 $\pm$ 0.3	140.0 $\pm$ 0.8	140.0 $\pm$ 0.6	137.9 $\pm$ 0.5	137.6 $\pm$ 0.4	0.05
Altura al pecho (APE)	59.8 $\pm$ 0.3	60.8 $\pm$ 0.7	60.6 $\pm$ 0.6	58.8 $\pm$ 0.5	59.7 $\pm$ 0.4	0.05
Angulo de anca (ANGA)	7.6 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.6	7.6 $\pm$ 0.5	7.4 $\pm$ 0.4	7.7 $\pm$ 0.3	ns
Ancho de anca (ANCA)	44.1 $\pm$ 0.3	43.1 $\pm$ 0.9	43.4 $\pm$ 0.7	43.4 $\pm$ 0.6	45.1 $\pm$ 0.5	ns
Ancho de grupa (ANGRU)	11.4 $\pm$ 0.1	11.1 $\pm$ 0.3	11.3 $\pm$ 0.2	11.4 $\pm$ 0.2	11.5 $\pm$ 0.1	ns
Largo de grupa (LGRUP)	50.1 $\pm$ 0.2	49.9 $\pm$ 0.4	50.1 $\pm$ 0.4	50.1 $\pm$ 0.3	50.1 $\pm$ 0.2	ns
<b>2. Carácter lechero</b>						
Espacio intercostal izq.(COS)	4.1 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.1	3.9 $\pm$ 0.1	ns
Largo de cuello (CUE)	43.1 $\pm$ 0.3	41.4 $\pm$ 0.7	44.1 $\pm$ 0.6	43.5 $\pm$ 0.5	43.0 $\pm$ 0.4	0.001
Largo de cabeza (LCA)	52.8 $\pm$ 0.1	51.6 $\pm$ 0.4	53.1 $\pm$ 0.3	52.7 $\pm$ 0.3	53.0 $\pm$ 0.2	0.001
Ancho de cabeza (CAB)	23.7 $\pm$ 0.1	23.2 $\pm$ 0.4	24.0 $\pm$ 0.3	23.5 $\pm$ 0.3	23.8 $\pm$ 0.2	ns
Largo de oreja (LOR)	23.5 $\pm$ 0.1	22.7 $\pm$ 0.3	23.7 $\pm$ 0.3	23.4 $\pm$ 0.2	23.8 $\pm$ 0.2	ns
Largo de cola (LOR)	98.5 $\pm$ 0.5	99.9 $\pm$ 1.3	98.4 $\pm$ 1.1	97.9 $\pm$ 0.9	98.6 $\pm$ 0.7	ns
<b>3. Capacidad corporal</b>						
Profundidad corporal (CORP)	231.8 $\pm$ 0.9	228.9 $\pm$ 1.3	231.4 $\pm$ 1.0	232.1 $\pm$ 0.9	232.8 $\pm$ 0.7	ns
Largo de cuerpo (LCU)	214.6 $\pm$ 0.7	211.4 $\pm$ 1.7	214.2 $\pm$ 1.4	214.5 $\pm$ 1.2	215.8 $\pm$ 0.1	ns
Perímetro torácico (TOX)	187.3 $\pm$ 0.6	186.8 $\pm$ 0.9	188.1 $\pm$ 0.7	187.8 $\pm$ 0.6	186.7 $\pm$ 0.5	ns
Perímetro abdominal (ABD)	203.4 $\pm$ 0.8	199.7 $\pm$ 1.4	202.9 $\pm$ 1.1	204.4 $\pm$ 0.9	204.0 $\pm$ 0.8	ns
Ancho de pecho (PECH)	25.0 $\pm$ 0.2	24.9 $\pm$ 0.6	25.6 $\pm$ 0.5	25.3 $\pm$ 0.4	24.5 $\pm$ 0.4	ns
<b>4. Patas y pezuñas</b>						
Altura al corvejón (ACOV)	54.4 $\pm$ 0.2	55.1 $\pm$ 0.4	54.9 $\pm$ 0.3	54.5 $\pm$ 0.3	53.9 $\pm$ 0.2	ns
Altura al codo (COD)	39.9 $\pm$ 0.1	40.4 $\pm$ 0.4	40.3 $\pm$ 0.3	39.6 $\pm$ 0.3	39.7 $\pm$ 0.2	ns
Largo pata anterior (LPA)	76.8 $\pm$ 0.2	78.1 $\pm$ 0.6	77.4 $\pm$ 0.5	76.4 $\pm$ 0.4	76.3 $\pm$ 0.3	ns
Perímetro pata posterior (PPP)	22.7 $\pm$ 0.1	22.6 $\pm$ 0.2	22.7 $\pm$ 0.1	22.9 $\pm$ 0.1	22.6 $\pm$ 0.1	ns
Perímetro pata anterior (PPA)	19.5 $\pm$ 0.1	19.7 $\pm$ 0.1	19.7 $\pm$ 0.1	19.6 $\pm$ 0.1	19.3 $\pm$ 0.1	ns
Angulo de pezuña (AP)	42.9 $\pm$ 0.2	43.6 $\pm$ 0.7	42.8 $\pm$ 0.5	43.1 $\pm$ 0.4	42.5 $\pm$ 0.4	ns
<b>5. Ubre</b>						
Profundidad de la ubre (PUB)	40.5 $\pm$ 0.3	38.7 $\pm$ 0.8	40.5 $\pm$ 0.7	41.1 $\pm$ 0.6	40.6 $\pm$ 0.5	ns

Altura ubre posterior (AUP)	27.1±0.3	27.5±0.7	27.5±0.6	27.6±0.5	26.5±0.4	ns
Ancho ubre posterior (ANUP)	10.3±0.1	9.6±0.4	10.3±0.3	10.1±0.2	10.7±0.2	ns
Ligamento medio (LM)	27.1±0.3	25.1±0.9	27.9±0.7	27.3±0.6	27.1±0.5	ns
Largo de pezón (LPZ)	7.9±0.1	6.7±0.3	8.1±0.2	7.8±0.2	8.3±0.2	0.001

\*  $P > 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , NS:  $P > 0.05$ . Unidades de medida: PV en kg, AP en grados y demás medidas en cm. Comparación de medias: Prueba de Tukey ajustada. Peso corporal se usó como covariable en el modelo.

### Principales variables de tipo

Mediante el ACP se realizó un análisis exploratorio de la información, que redujo el conjunto de variables (Cuadro 3) y permitió seleccionar un subconjunto de rasgos que explicara la mayor proporción de variación. Así, las variables TOX, PC, ACR, ABD, CORP y PPA fueron consideradas, ya que en conjunto explicaron más del 70% de la variación en el tipo de la raza en la región de estudio.

**Cuadro 3.** Medias de mínimos cuadrados y errores estándar de variables morfométricas seleccionadas con ACP en ganado Suizo Americano de Chiapas.

Variables		Media	EEM
Perímetros torácico	(TOX)	187.7	0.6
Peso corporal	(PC)	519.2	4.0
Alzada a la cruz	(ACR)	137.4	0.3
Perímetro abdominal	(ABD)	203.6	0.8
Profundidad corporal	(CORP)	231.8	0.9
Perímetro pata anterior	(PPA)	19.5	0.1

La variable producción de leche (PL) presentó correlación positiva baja con PC ( $p < 0.003$ ), TOX, ABD y CORP ( $p < 0.04$ ), cuya coeficiente de correlación ( $r$ ) varió de 0.16 a 0.35.

Como resultado del ACP se seleccionaron las primeras tres componentes (M1-M3) que explicaron más del 90% de la variación total. Las variables representativas en cada componente fueron: M1=TOX, PV, ACR, ABD, CORP y PPA ; M2= COD, LM y ACOV; M3= NP, ANUP y PUB. Como se observa, M1

contiene rasgos relacionados con la condición corporal de la vaca; M2 con patas y ubre, M3 con ubre posterior, con esta base se obtuvieron tres conglomerados homogéneos (Figura 1).

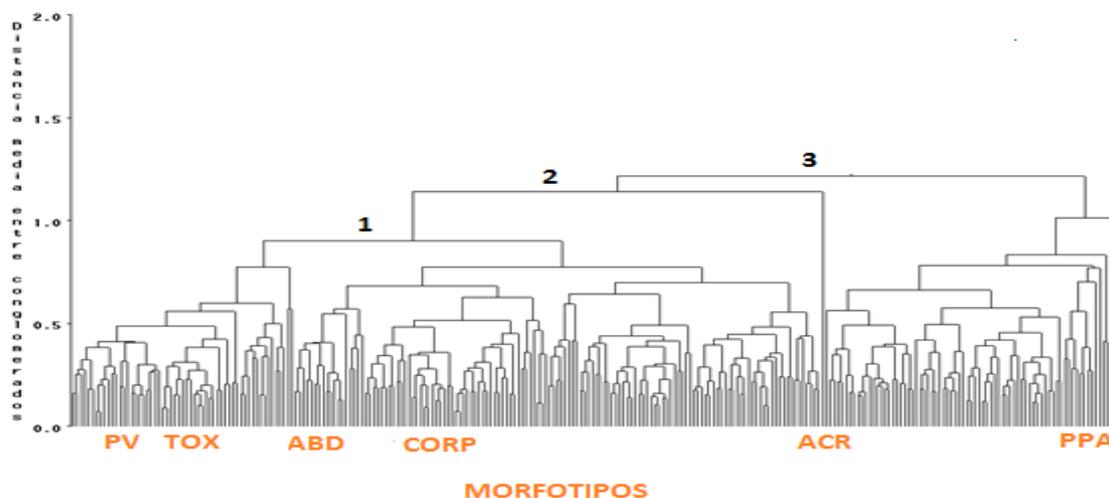


Figura 1. Conglomerados que representan los morfotipos de la raza Suizo Americano en Chiapas.

En el primer componente principal dos variables presentan diferencias ( $P < 0.05$ ) lo que sugiere una influencia ambiental distinta sobre el tamaño de los animales. Para los componentes 2 y 3, presentan variables informativas que indican homogeneidad de las características de los animales. Indicando que la Morfometría es un indicador ecológico que mide el grado de adaptación de una especie a su ambiente (Pineda *et al.*, 2004)

### Número de lactancia

La producción de leche fue ajustada a 305 d, 2x y EM, encontrando que esta no influyó en las medidas morfométricas, sin embargo para fines de juzgamiento, esta variable podría influir en la calificación del animal, debido a que este no ha alcanzado su máximo desarrollo corporal.

### Distribución gráfica de los animales en el plano factorial

En la (Figura2), se aprecia la posición relativa de cada animal en el plano factorial, encontrándose en el centro del plano los animales que comparten medidas similares y fuera del círculo los considerados “*outliers*” o animales que

presentan parámetros morfométricos que no corresponden a la media encontrada en la región de estudio, lo cual puede deberse a que son animales que conservan genes de otras razas con las cuales fueron emparentadas, o bien son animales que presentan un grado de adaptación superior al resto de los animales y que alcanzan tallas superiores, o por el contrario animales muy pequeños no adaptados al medio tropical o que han sufrido problemas patológicos que han limitado su desarrollo.

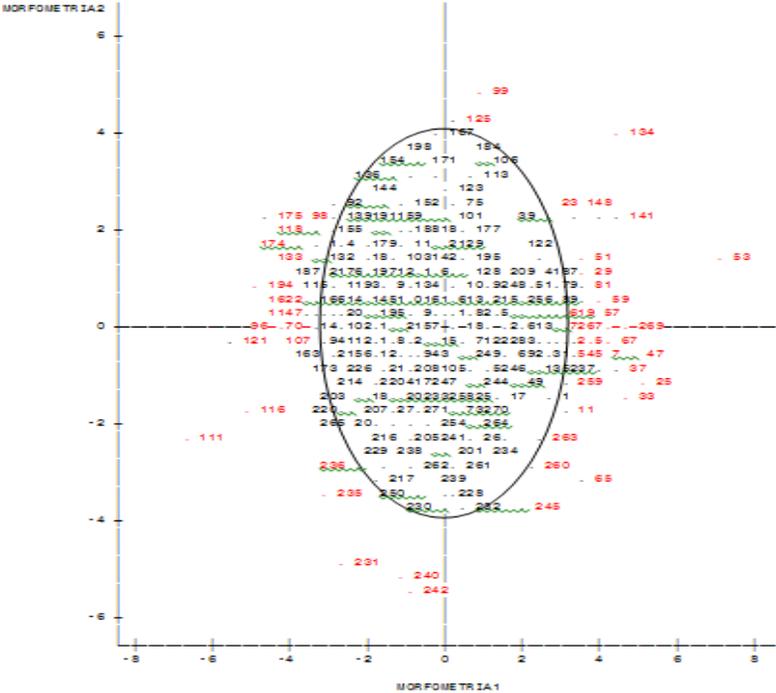


Figura 2. Identificación de animales en el plano factorial

**3.6. DISCUSIÓN**

Los resultados que coinciden con lo reportado por Vij *et al.* (1990) quienes encontraron correlaciones positivas de la producción de leche con algunas variables de tipo; de igual manera, Sieber *et al.* (1988) mencionan que vacas más grandes producen más leche que vacas de talla más pequeña y contradice lo encontrado por Rodríguez *et al.* (2001), quienes mencionan que a partir de parámetros zootécnicos no es posible determinar la productividad del animal. Así mismo, se encontraron correlaciones altas ( $r > 0.60$ ) entre PC y ACR, TOX ABD Y CORP ( $P < 0.001$ ) y entre las demás variables morfométricas; estos resultados son

similares con los reportados por Henao y Mejía (1994), quienes encontraron altas correlaciones entre las variables de peso vivo, perímetro torácico, perímetro abdominal y alzada a la cruz en ganado Pardo Suizo y López y Alvarado (1992); Fry (2001) Mahecha *et al.* (2002) y Ramírez *et al.* (2008); quienes a partir de la medición de TOX pudieron estimar el peso vivo, demostrando así la correlación alta entre ambas variables. La correlación entre TOX y ACR también ha sido reportada por otros autores en otras razas, como en ganado Criollo argentino (Martinez *et al.*, 1998).

### **3.7. CONCLUSIONES**

Los resultados evidenciaron que tres conglomerados, representan poblaciones o morfotipos con un bajo grado de variabilidad en sus características y con los cuales se puede caracterizar la raza Suizo Americano en la región tropical de Chiapas. Esta clasificación morfométricas puede servir de referencia para evaluar la raza Suizo Americano en condiciones tropicales del sur de México. Además de la información del pedigrí, las evaluaciones morfométricas pueden servir como criterios de selección en los programas de mejoramiento genético.

### **3.8. REFERENCIAS**

- Brown Swiss Association. 2006. All Rights Reserved Best when viewed with the latest. [www.brownswissusa.com](http://www.brownswissusa.com).
- Berger, P. J., W. R. Harvey and E.R. Rader. 1973. Selection for type and influence on herd life of Holstein Cows. *J. Dairy Sci.*, 56: 805.
- Caballero R. 2001. Typology cereal sheep farming systems in Castilla, La Mancha (south-central) Spain. *Agric. Systems*; (68):215-232.
- Dairy Cow Unified Score Card. The purebred Dairy Cattle Association. Brattleboro, VT. 1994.
- Henao F, Mejía N. 1994. Barimetría en ganado Pardo Suizo. *Revista Veterinaria y Zootecnia de Caldas*. 7(4): 78- 81.
- Erb, R.E., and U.S. Ashworth. 1961. Relationship between age, body weight, and Yield of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 44:515.
- Fry, G. 2001. Sizing up the herd. *Linear measurements & their potential meaning*. ACRES U.S.A. p. 10-13.
- Hansen, L. B. and J. W. Mudge. 1983. *Judging Dairy Cattle*. University of Minesota Extension Service AG-FO-0647.
- I.N.E.G.I. 1990. VI Censo, Estado de Chiapas. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México.

- Köbrich C., T. Rehman and M. Khan. 2003. Typification of farming systems for constructing representative farm models: two illustrations of the application of multi-variate analyses in Chile and Pakistan. *Agric. Systems*, 76: 141–157.
- López, B. S y L. N. Alvarado. 1992. Funcionalidad de la condición corporal para estimar comportamiento reproductivo en bovinos de carne. Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, U.C.V. Apdo. 4579, Maracay, 2101 A, Aragua-Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 18:285-292.
- Mahecha, L; J. Angulo y L. P. Manrique. 2002. Predicción del peso vivo a través del perímetro torácico en la raza bovina Lucerna. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. *Rev Col Cienc Pec Vol. 15: 1*, 80-87.
- Martínez D. R, Fernández NE, Rumiano J.F y Pereyra MA.1998. Medidas zoométricas de conformación corporal en bovinos criollos argentinos. Lomas de Zamora Provincia de Buenos. Aires Argentina. *Zootecnia Trop.*, 16(2):241-252.
- Martínez M I. 2002. Técnicas básicas de anatomía microscópica y de morfometría para estudiar los Insectos. Instituto de Ecología, A.C. Departamento de Ecología y Comportamiento Animal. *Aracnet* 2002. (30) 187-195.
- Méndez I, Cariño C, Díaz L. 2004. \*La prolactina en el sistema inmunológico: aspectos de síntesis y efectos biológicos. Departamento de Biología de la Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México.
- Milán J. M, Arnalte E, Caja G. 2003. Economic profitability and typology of Ripollesa breed sheep farms in Spain. *Small Rum Res*;(49):97-105.
- Miller, P.D., L.D. Van Vleck, and C.R. Henderson. 1967. Relationship among herd life, milk production, and calving interval. *J. Dairy Sci.* 50:1283.
- Mitra, A., Schelee, P., Balakrishnan, C. R., Pirchner, F. 1995. Polymorphisms at growth-hormone and prolactin loci in Indian cattle and Buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 112 (1995), 71-74.
- Norman, H. D., and L. D. Van Vleck.1972b. Type appraisal: II. Variation in type traits due to sires, herds and years. *J. Dairy Sci.*, 55: 1717.
- Pineda S. H, Restrepo L. F, Olivera Á. M. 2004. Comparación morfométrica entre machos y hembras de Cachama Negra (*Collossoma macropomum*, Cuvier 1818) mantenidos en estanque. *1Fisiología y Biotecnología de la Reproducción, Corporación Biogénesis (Colombia)*. *Rev Col Cienc Pec Vol. 17:24-29*.
- Ramírez, J.L; A. De Quiriagua; T. Rodríguez y Y. Torres. 2008. Evaluación del peso vivo estimado con el uso de medidas corporales de becerros de doble propósito. Departamento de Producción Animal, Escuela de Zootecnia, Núcleo Monagas, Universidad de Oriente. Núcleo Monagas. *Revista Científica UDO Agrícola* 2008. 8 (1): 132-137.
- Rodríguez, M; G. Fernández; C. Silveira y J. V. Delgado. 2001. Estudio étnico de los bovinos criollos del Uruguay. Área de Mejoramiento Genético Animal. Facultad de Veterinaria. Regional Norte-Salto. UDELAR. Uruguay. Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. *España Arch. Zotec.* 50: 113-118.

- SAS Institute Inc. 2003. SAS/STAT User's Guide. Second Edition. Cary, NC: North Carolina, USA. 496 p.
- Sieber, M., A.E. Freeman and D.H. Kelley. 1988. Relationship between body measurements, body weight and productivity in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71: 3437-3445.
- Specht, L. W., H. W. Carter, and L. D. Van Vleck. 1967. First classification score and length of herd life. *J. Dairy Sci.*, 50:1690.
- Stamscchor J. 2000. Judging Dairy Cattle. College of Agricultural, Food, and environmental Science, U of MN. Pp. 1-8
- Van Vleck, L.D., D.B. Filkins, H.W. Carter and C.L. Hart. 1969. Relationship between type traits and longevity of daughters of New York Holstein Sires. *J. Dairy Sci.*, 52: 1823.
- Vij, P. K; D. S. Balain, M. George and A. K. Vinayak. 1990. Linear type traits and their influence on milk production in Tharparkar cattle. *Indian Journal of Animal Science* 60(7):845-852.
- Wilk, J.C, C. W. Young and C. L. Cole. 1963. Genetic and phenotypic relationship between certain body measurements and first lactation milk production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 46:1273.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES**

### **1. CONCLUSIONES GENERALES**

La determinación de los genotipos de prolactina y kappa caseína a temprana edad del animal, representan una ventaja, considerando que ambos genes influyen en la composición y producción de leche, convirtiéndose en una opción importante para ser incluido en los programas de mejoramiento genético. Con esto, los criadores de ganado cuentan con una herramienta más para la selección de reproductores antes de que estos lleguen a la etapa productiva. Además, conocer la estructura genotípica del hato permite seleccionar semen o sementales con el genotipo deseable que serán incluidos a los programas reproductivos.

Las medidas morfométricas tomadas directamente del animal, permiten establecer un estándar del hato, determinando así las características que pueden ser motivo de mejora por medio de cruzamientos correctivos.

Al determinar morfotipos de la raza Suizo Americano en la región de estudio, los resultados evidenciaron que tres conglomerados, representan poblaciones o morfotipos con los cuales se puede caracterizar la raza Suizo Americano en la región tropical de Chiapas. La clasificación morfométrica puede servir de referencia para evaluar la raza Suizo Americano en condiciones tropicales del sur de México.

### **2. RECOMENDACIONES**

Se recomienda incluir en los programas de mejoramiento genético, herramientas moleculares que incluyan genes candidatos (prolactina, kappa caseína) por su relación con la producción y composición de la leche.

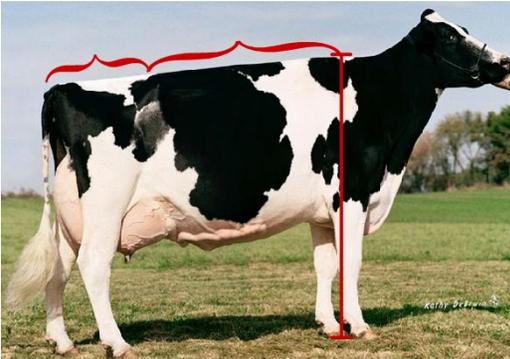
Por otra parte, se recomienda ampliar los estudios morfométricos con la finalidad de establecer el estándar de la raza en México, y a su vez, utilizarlo en los sistemas de clasificación por tipo, ya que actualmente, estos son establecidos por la Brown Swiss de Estados Unidos.

## 4. ANEXOS

### 4.1. PUNTOS DE OBSERVACIONES UTILIZADOS PARA JUZGAMIENTO EN GANADO LECHERO.

#### 1. *ESTATURA*

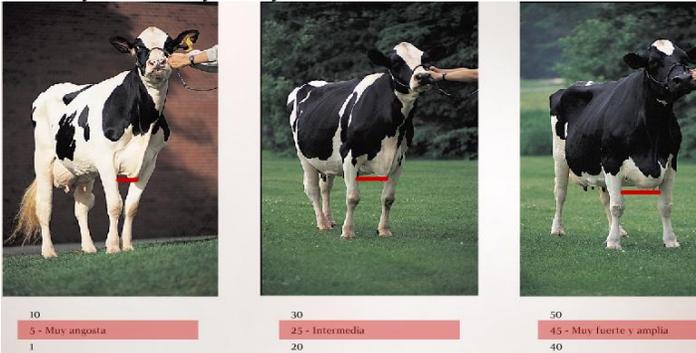
1. Muy baja 132 cm, 3. Baja 137 cm, 5. Intermedia 142 cm 7. Alta 147 cm 9. Muy alta 152 cm.



**Figura 1.** Alzada a la cruz

#### 2. *FORTALEZA*

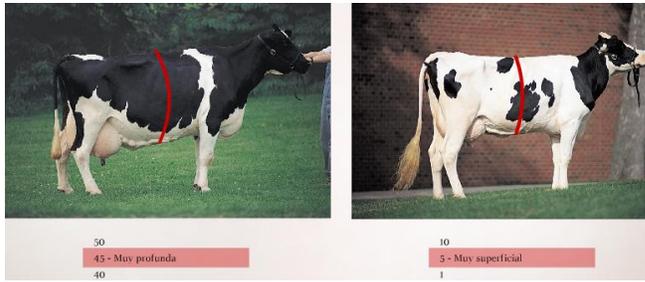
1. Muy angosta y débil
3. Angosta y débil
5. Anchura y fortaleza intermedia
7. Ancha y fuerte
9. Muy ancha y muy fuerte



**Figura 2.** Ancho de pecho

#### 3. *PROFUNDIDAD CORPORAL*

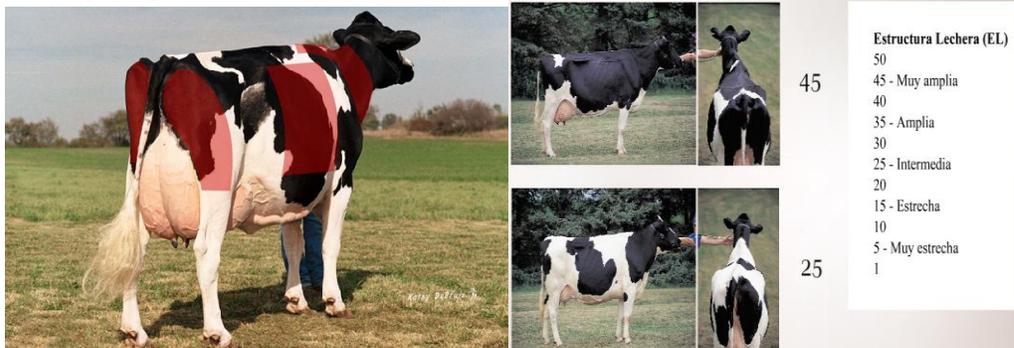
1. Muy poco profunda
3. Poco profunda
5. Profundidad intermedia
7. Profunda
9. Extremadamente profunda



**Figura 3.** Profundidad corporal

#### 4. TIPO LECHERO

1. Muy tosca y de costillas muy juntas
3. Tosca, costillas poco separadas, sin arqueamiento
5. Medianamente angulosa, costillas limpias y mediano arqueamiento
7. Angulosa, buen arqueamiento, limpieza y abertura de costillar
9. Muy angulosa, excelente arqueamiento, limpieza y abertura costillar



**Figura 4.** Estructura lechera

#### 5. ANGULO DE LA GRUPA (Vista lateral)

1. Isquiones más altos que las puntas de la cadera (tuberosidad coxal) 5 cm de inclinación inversa.
3. Isquiones al mismo nivel que las puntas de las caderas
5. Inclinación ligera desde las puntas de las caderas hacia los isquiones 5 cm de inclinación
7. Inclinación moderada (10 cm) de las puntas de las caderas a las puntas de los isquiones
9. Inclinación extrema (15 cm) de las puntas de la cadera a las puntas de los isquiones



**Figura 5.** Angulo de grupa

6. **ANCHO DE LA GRUPE** (Articulación coxofemural o palomilla)

1. Extremadamente angosta en la articulación coxofemural
3. Ligeramente angosta en la articulación coxofemural
5. Anchura intermedia de la articulación coxofemural
7. Moderadamente ancha en la articulación coxofemural
9. Extremadamente ancha en la articulación coxofemural



**Figura 6.** Ancho de grupa

7. **PATAS TRASERAS** (Vista desde atrás)

1. Miembros extremadamente arqueados hacia adentro con corvejones juntos
4. Miembros considerablemente arqueados hacia adentro con corvejones juntos
6. Miembros moderadamente arqueados hacia adentro con corvejones juntos
8. Miembros rectos, patas traseras paralelas
9. Miembros ligeramente arqueados hacia afuera



**Figura 7.** Patas traseras vista de atrás

8. **PATAS TRASERAS** (vista lateral)

1. Extremadamente rectas
3. De corvejón casi recto
5. De corvejón ligeramente cerrado
7. Corvejón moderadamente cerrado
9. De corvejón extremadamente cerrados



**Figura 8.** Patas trasera vista lateral

### 9. ANGULO DE PEZUÑAS

1. Angulo extremadamente bajo  $-33^\circ$ , talón muy poco profundo
3. Angulo moderadamente bajo  $-39^\circ$ , talón poco profundo
5. Angulo intermedio  $-45^\circ$ , talón promedio
7. Angulo moderadamente empinado  $-51^\circ$ , talón alto
9. Angulo extremadamente empinado  $-57^\circ$ , talón muy alto



**Figura 9.** Angulo de pezuñas

### 10. INSERCION DE LA UBRE ANTERIOR

1. Extremadamente flojos, débiles o desprendidos
3. Muy flojos y débiles
5. Inserción fuerte
7. Inserción muy fuerte
9. Inserción extremadamente fuerte



**Figura 10.** Inserción ubre anterior

### 11. ALTURA DE LA UBRE POSTERIOR

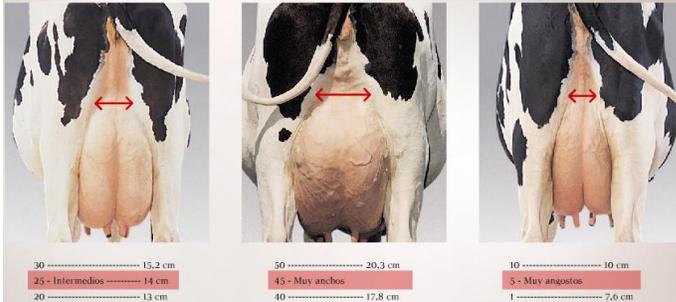
1. Extremadamente baja
3. Baja
5. Intermedia
7. Alta
9. Extremadamente alta



**Figura 11.** Altura ubre posterior

## 12. ANCHO UBRE POSTERIOR

1. Extremadamente angosta -11.5 cm
3. Angosta -15 cm
5. Intermedia -18.5 cm
7. Ancha -22.5 cm
9. Extremadamente ancha -26.5 cm



**Figura 12.** Ancho ubre posterior

## 13. LIGAMENTO MEDIO DE LA UBRE

1. Surco negativo, con desprendimiento del ligamento
2. Fondo chato sin surco
3. Surco ligero -0.8 cm
5. Mitades y surco definidos -2.5 cm
7. Surco profundo -4cm
9. Surco extremadamente profundo -6cm



**Figura 13.** Ligamento medio

## 14. PROFUNDIDAD DE LA UBRE

1. Extremadamente profunda, 5cm por debajo del corvejón
3. Al nivel del corvejón
5. Ligeramente por encima del corvejón -5 cm por encima
7. Fondo de la ubre por encima del corvejón -10 cm por encima
9. Extremadamente alta-poco profunda-15 cm por encima



**Figura 14.** Profundidad de la ubre

**15. COLOCACION DE LOS PEZONES (Vistos desde atrás)**

1. Pezones delanteros extremadamente separados
3. Colocación moderadamente hacia el exterior (separados)
5. Colocación ligeramente hacia el exterior
7. Colocación ligeramente hacia el interior (cerrados)
9. Pezones extremadamente cerrados



**Figura 15.** Colocación de pezones

**16. LONGITUD DE LOS PEZONES**

1. Extremadamente cortos -1.9 cm
3. Moderadamente cortos -3.8 cm
5. Longitud intermedia -5.7 cm
7. Moderadamente largos -7.6 cm
9. Extremadamente largos -9.5 cm



**Figura 16.** Longitud de pezones



**Figura 17.** Balance de la ubre

## 4.2. GLOSARIO DE TERMINOS

**Acrilamida.** Monómero empleado para la síntesis de poliacrilamida

**ADN recombinante.** Molécula de ADN artificial formada de manera deliberada *in vitro* por la unión de secuencias de ADN provenientes de organismos de especies diferentes.

**Agarosa.** es un producto natural que forma una matriz inerte y no tóxica que supone una herramienta indispensable en gran cantidad de técnicas de biología molecular, bioquímica y biología celular. Su uso más extendido es para construir geles que permiten separar moléculas de ADN mediante electroforesis, además de ser utilizada para fijar moléculas a su estructura como anticuerpos, antígenos y enzimas.

**Apolimórfico.** Que no es polimórfico.

**Bromuro de etidio.** Compuesto químico utilizado en la preparación de geles de agarosa que ayudan a visualizar los fragmentos de ADN. Compuesto altamente teratogénico.

**Codominante.** Estado en que se expresa un gen, o un Individuo que manifiesta tanto el carácter dominante como recesivo.

**Cromosoma.** Pequeños cuerpos en forma de bastoncillo que forman la cromatina del núcleo celular durante las divisiones celulares.

**Deleciones.** En genética, es un tipo especial de anomalía estructural cromosómica que consiste en la pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma.

**Dopamina.** ( $C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$ ) es una hormona y neurotransmisor producida en una amplia variedad de animales, incluyendo tanto vertebrados como invertebrados. Según su estructura química, la dopamina es una feniletilamina, una catecolamina que cumple funciones de neurotransmisor en el sistema nervioso central.

**Electroforesis capilar.** Es una técnica de separación utilizada en distintas áreas (química, bioquímica, etc.) para separar las diferentes moléculas presentes en una disolución de acuerdo con la relación masa/carga de las mismas. La separación se lleva a cabo en un tubo hueco de diámetro muy

pequeño, de ahí que reciba el nombre de capilar. Dentro de este capilar se encuentran la disolución que contiene los analitos o las moléculas a separar y el tampón o medio electrolítico que es el encargado de conducir la corriente.

**Enzimas.** Son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre que sean termodinámicamente posibles: Una enzima hace que una reacción química que es energéticamente posible pero que transcurre a una velocidad muy baja, sea cinéticamente favorable, es decir, transcurra a mayor velocidad que sin la presencia de la enzima.

**Enzimas de restricción.** Las enzimas de restricción, también conocidas como endonucleasas, son enzimas que cortan los enlaces fosfodiéster del material genético a partir de una secuencia que reconocen. Las mismas permiten cortar DNA de hebra doble, donde reconocen secuencias palindrómicas (secuencias que se leen igual en ambas direcciones).

**Fenotipo.** Se denomina fenotipo a la expresión del genotipo en función de un determinado ambiente. Los rasgos fenotípicos incluyen rasgos tanto físicos como conductuales. Es cualquier característica o rasgo observable de un organismo, como su morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas, fisiología y comportamiento.

**Fosfoinositol.** Familia de enzimas capaces de fosforilación del grupo hidroxilo en la posición 3' del anillo inositol de moléculas llamadas en conjunto fosfatidilinositol.

**Genes autosómicos.** Aquellos genes que no provienen de células sexuales.

**Genoma.** Es la totalidad de la información genética que posee un organismo en particular.

**Haplotipo.** Es una combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos. Un haplotipo puede ser un locus, varios loci, o un cromosoma entero dependiendo del número de eventos de recombinación que han ocurrido entre un conjunto dado de loci.

**Hibridación introgresiva.** Es otra forma de hibridación interespecífica: a la hibridación le siguen retrocruzas con una de las especies parentales, de manera que se mantiene la integridad taxonómica, con la transferencia de

algunas características de la otra especie. Esto aumenta la variabilidad y los productos de recombinación que se obtienen de ella. Es difícil de detectar. Ej. el maíz norteamericano es igual al maíz sudamericano más una contaminación con genes de *Tripsacum sp.* (especie silvestre afín) ocurrida por introgresión.

**Huellas digitales.** Huella genética (también llamada pruebas de ADN o análisis de ADN) es una técnica utilizada para distinguir entre los individuos de una misma especie utilizando muestras de su ADN.

**Inserciones.** Dentro de la secuencia del ADN se introducen nucleótidos adicionales, interpuestos entre los que ya había, alargándose correspondientemente la cadena.

**Inversiones.** En Genética, una inversión cromosómica es un cambio estructural por el cual un segmento cromosómico cambia de sentido dentro del propio cromosoma y, por lo tanto, la ordenación de *loci* en él contenidos con relación a una secuencia considerada como típica (ordenación estándar). Una inversión requiere dos roturas y la posterior re inserción del segmento invertido.

**Isoenzimas.** Las isoenzimas o isozimas son enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos, pero que catalizan la misma reacción química. Estas enzimas suelen mostrar diferentes parámetros cinéticos (*i.e.* diferentes valores de  $K_M$ ), o propiedades de regulación diferentes.

**Juzgamiento.** Prácticas visuales realizadas por un juez para determinar si un animal cumple con los estándares de la raza.

**Mapas genéticos.** Estos pueden ser "mapas genéticos o de ligamiento", los cuales determinan una distancia estadística entre dos genes, o pueden ser un "mapa físico", el cual determina la distancia entre dos genes por los nucleótidos o pares de bases del ADN. Ambos son útiles y generalmente se hace primero un mapa de ligamiento y luego un mapa físico en el proceso de clonado posicional o el aislamiento génico de las enfermedades humanas hereditarias.

**Mutación.** Alteración o cambio en la información genética (genotipo) que va a producir un cambio de características.

**Nucleótidos.** Moléculas orgánicas formadas por la unión covalente de un monosacárido de cinco carbonos (pentosa), una base nitrogenada y un grupo fosfato.

**Osmorregulación.** Es la forma activa de regular la presión osmótica del medio interno del cuerpo, para mantener la homeostasis de los líquidos.

**Poliacrilamida.** Es uno de los geles utilizados con más frecuencia para realizar técnicas de electroforesis.

**Polimorfismo.** Hace referencia a la existencia en una población de múltiples alelos de un gen. Es decir, un polimorfismo es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población.

**Polipeptídico.** Es un péptido de tamaño suficientemente grande; más de 10 aminoácidos.

**QTL.** Es un locus cuya variación alélica está asociada con la variación de un carácter cuantitativo, es decir, con aquellos caracteres cuantificables que varían de forma continua. La presencia de un QTL se deduce por cartografía genética, donde la variación total para un determinado carácter se divide en componentes asociados a una o varias regiones cromosómicas discretas.

**Sonda.** Una sonda genética consiste en un fragmento de ADN complementario a la secuencia que se busca y a la que se unirá de manera específica. La unión al ADN, puede detectarse marcando la sonda con "etiquetas químicas" o sustancias químicas.

**Translocación cromosómica.** Es el desplazamiento de un segmento de un cromosoma a un nuevo lugar en el genoma.

### 4.3. FOTOGRAFÍAS TOMADAS DURANTE EL TRABAJO DE CAMPO



Pesadores automáticos (Flamboyanes) Prueba de CMT (Flamboyanes)



Rancho los (Flamboyanes)

Rancho (La Realidad)



Vacas del Rancho (La Realidad)

Rancho (La Realidad)



Establo del Rancho los (Flamboyanes)

Semental del Rancho (Los Flamboyanes)



Rancho los (Flamboyanes)



Rancho los (Flamboyanes)



Rancho (La Gloria)



Rancho (Santa Lucía)



Quinta (Paradigma)



Quinta (Paradigma)



Ordeñando en Rancho (La Gloria)



Desayunando en el Rancho (La Gloria)



Vaca del Rancho (Santa Lucía)



Becerra de la Quinta (Paradigma)



Rancho (La Realidad)



Rancho (La Gloria)



Rancho (La Gloria)



Rancho (Santa Lucía)



Rancho (Santa Lucía)

NO.	NOMBRE	LECHE	MAESTRO	NO.	NOMBRE	LECHE	MAESTRO
1	Diana	8.0		16	Megallana	8.5	
2	Panacea	8.8		17	Delmar	14.1	
3	Luzmar	8.6		18	Coma	11.8	
4	Elvira	8.8		19	Alfonsa	8.4	
5	Pala	12.1		20	Galadina	12.2	
6	Alfonso	8.8					
7	Larissa	7.2					
8	Romulo	8.4					
9	Luzmar	7.3					
10	Naja	8.6					
11	Estrella	14.0					
12	Miguelina	7.8					
13	Paula	8.0					
14	Lucía	11.2					
15	Lucía	10.2					

Rancho (Santa Lucía)



Rancho (La Gloria)



Rancho (Los Flamboyanes)



Rancho (La Realidad)



Registro genealógico



Rancho (La Gloria)



Punción venosa Rancho (La Gloria)



Punción venosa Rancho (Los Flamboyanes)



Rancho (Los Flamboyanes)