

Polimorfismo del gen PAPP2 asociado con la fertilidad postparto en vacas lecheras de raza Holstein manejadas bajo condiciones cálidas en el sur de Sonora México

Polymorphism in the PAPP2 gene associated with postpartum fertility in Holstein milking cows managed under warm conditions in southern Sonora Mexico

Pablo Luna-Nevárez¹, Isabel Álvarez-Tavares¹, José Torres Simental¹, José Leyva-Corona¹, Juan F. Medrano², Milton G. Thomas³, Ricardo Zamorano-Algandar⁴, Manuel Nieblas-López^{4*}

¹ Depto. de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Ciudad Obregón, Son., 85000, Mex.

² Department of Animal Science, University of California, Davis, CA 95616, USA.

³ Texas A&M AgriLife Research, Beeville, TX 78102, USA.

⁴ Depto. de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora, Hermosillo, Son., 83000, Mex.

ABSTRACT

Reproductive management in dairy cows in southern Sonora is a challenge due to the characteristic hot climate, thus, genetic selection for fertility is desirable. Our objective was to study the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) from the PAPP2 gene and postpartum fertility traits in lactating Holstein cows. A total of 362 cows were included in this study. Individual blood samples were collected on FTA cards, which were used for DNA extraction and genotyping of two PAPP2 gene SNPs. An associative study was then performed between the genotypes of the SNPs and postpartum reproductive traits using a statistical mixed-effects model. Only the SNP rs109952914 was associated with all fertility traits and retained for allele substitution analysis. The favorable allele of the SNP rs109952914 was the T allele ($P < 0.05$), as it increased the percentage of pregnancy at first service (+ 12.60), and reduced services per conception (- 0.16) and days open (- 19.52). In conclusion, a SNP within the PAPP2 gene was a predictor of postpartum fertility in Holstein dairy cows; then, it was recommended to be used as genetic marker in animal breeding programs to increase reproductive efficiency in Holstein dairy cattle managed under warm environmental conditions.

Keywords: dairy cattle; DNA; hot climate; reproduction; SNP.

RESUMEN

El manejo reproductivo en vacas lecheras en el sur de Sonora es un reto debido al clima cálido característico, por lo que la selección genética para fertilidad es deseable. El objetivo fue estudiar la asociación entre polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) del gen PAPP2 y caracteres de fertilidad postparto en vacas Holstein lactantes. Un total de 362 vacas fueron incluidas en el estudio. Muestras de sangre individuales fueron recolectadas y vaciadas en tarjetas FTA, las cuales fueron usadas para la extracción de ADN y genotipificación de dos SNPs del gen PAPP2. Posteriormente se realizó un estudio asociativo entre los genotipos de los SNPs y caracteres reproductivos postparto, usando un modelo

estadístico de efectos mixtos. Sólo el SNP rs109952914 se asoció con todos los rasgos reproductivos estudiados por lo que fue retenido para el análisis de sustitución alélica. El alelo favorable del SNP rs109952914 fue el alelo T ($P < 0.05$), ya que éste aumentó el porcentaje de preñez a primer servicio (+12.60), y redujo los servicios por concepción (-0.16) y los días abiertos (-19.52). En conclusión, un SNP dentro del gen PAPP2 resultó ser predictor de la fertilidad postparto, por lo cual se recomienda usarlo como marcador genético en programas de mejoramiento animal para incrementar la eficiencia reproductiva en vacas Holstein expuestas a condiciones ambientales cálidas.

Palabras clave: ADN; clima caluroso; reproducción; SNP; ganado lechero.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Sonora los establos lecheros tecnificados alcanzan una producción total de leche que rebasa los 310 mil litros al día (SAGARPA, 2020). Dentro de estos sistemas productivos, la fertilidad representa un factor de suma importancia para alcanzar los altos volúmenes de leche requeridos para asegurar su rentabilidad (Zamorano-Algandar *et al.*, 2021).

El período de manejo reproductivo e inseminación artificial en ganado lechero en regiones cálidas inicia el mes de enero y se extiende hasta mayo y junio, sin embargo, la fertilidad empieza a decrecer a medida que avanza el verano. Lo anterior es debido a las condiciones ambientales extremas que causan estrés por calor (EC), y que son típicas de la época de verano en el sur de Sonora (Rivera-Acuña *et al.*, 2015). Los parámetros de fertilidad en establos lecheros de esta región son eficientes durante invierno y primavera llegando hasta el 80 %, pero decrecen a medida que se intensifican las condiciones climáticas cálidas resultando en un descenso en las tasas de gestación por debajo del 50 % (Leyva-Corona *et al.*, 2018).

Debido a la exposición ambiental en la época de verano, el ganado bovino lechero muestra una elevación en su

*Autor para correspondencia: Manuel Nieblas-López

Correo-e: manuel.nieblas@unison.mx

Recibido: 20 de febrero de 2024

Aceptado: 1 de noviembre de 2024

Publicado: 06 de diciembre de 2024

temperatura basal corporal y en su tasa respiratoria, que son alteraciones homeotérmicas que resultan del sistema de regulación térmica (West, 2003). Sin embargo, lo anterior ocasiona una reducción en el consumo de alimento, así como inmunodepresión y alteraciones metabólicas y endócrinas que comprometen seriamente la fertilidad y el rendimiento productivo (Hansen *et al.*, 2001).

Diversos manejos se han propuesto para disminuir el efecto adverso del estrés calórico y mejorar la fertilidad en vacas lecheras durante el verano, tales como cambios en la alimentación y adecuaciones en las instalaciones (Tresoldi *et al.*, 2018; Del Río-Avilés *et al.*, 2022). Sin embargo, dichas estrategias son costosas y poco accesibles para los productores de ganado lechero (Zamorano-Algandar *et al.*, 2021).

Actualmente, la aplicación de tecnologías moleculares se ha convertido en una importante herramienta para el descubrimiento de genes asociados a rasgos económicamente importantes, tales como la tolerancia al estrés por calor la cual influye favorablemente en la producción animal (Proaño-Morales *et al.*, 2021). La integración de áreas como la genómica y la selección de genotipos en el ganado según su adaptabilidad, son estrategias favorables para que los sistemas de producción de leche subsistan ante las preocupantes proyecciones demográficas y climáticas (Yodklaew *et al.*, 2017).

Genes pertenecientes al eje metabólico de la hormona del crecimiento (GH) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1) han sido reportados como asociados a rasgos reproductivos en bovinos (Angulo - Valenzuela *et al.*, 2021). Dichos genes se localizan dentro del cromosoma 5 (BTA5) e incluyen, además del IGF1, STAT5 (Transductor de señales y activador de transcripción tipo-5), SOCS2 (Supresor de señales de citoquinas tipo-2) y PMCH (Hormona propio-melanocortina). Estos genes son considerados como candidatos potenciales para estudios de fertilidad en ganado (Leyva-Corona *et al.*, 2018).

Interesantemente, el gen PAPP2 (Proteína plasmática asociada a la preñez tipo-2) ubicado en el cromosoma bovino 20 (BTA20), ha sido reportado como marcador genético de los caracteres de facilidad al parto y vida productiva en vacas Holstein (Wickramasinghe *et al.*, 2011), así como de las variables reproductivas de edad al primer y segundo parto en bovinos de la raza Romosinuano, por lo que parece estar asociado al eje metabólico GH/IGF1 (Luna-Nevárez *et al.*, 2012). La proteína codificada por el gen PAPP2 es considerada como biomarcador durante la gestación, y se expresa en ratones y humanos en tejidos reproductivos como ovarios, placenta, embrión y feto (Wang *et al.*, 2008). Recientemente, Zhao *et al.* (2022) reportaron polimorfismos del gen PAPP2 asociados a rasgos reproductivos en cerdos tales como tamaño de la camada y número total de nacidos.

Por lo tanto, el objetivo fue evaluar la asociación de 2 polimorfismos del gen PAPP2 con los caracteres reproductivos postparto de tasa de preñez a primer servicio, número de servicios por concepción y días abiertos en vacas lecheras Holstein manejadas en un clima cálido.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Comité de Ética del Instituto Tecnológico de Sonora aprobó los protocolos experimentales y procesos establecidos para el manejo del ganado bovino incluido en este estudio (Código de registro 2019_0108).

Sitio experimental

La presente investigación se realizó en dos establos lecheros localizados en el Valle del Yaqui, en el sur del estado de Sonora, durante el período del 15 de marzo al 15 de junio. La ubicación geográfica se sitúa en las coordenadas de 27°22'04" de Latitud Norte y 109°53'09" de Longitud Oeste, a una altura de 20 metros promedio sobre el nivel del mar. El clima existente varía de seco a semi-húmedo, y se caracteriza por temperaturas anuales que promedian una máxima de 33.6°C y una mínima de 17.4°C, con una precipitación anual promedio de 520.1 mm.

Animales y manejo

El estudio incluyó 362 vacas de raza Holstein lactantes, de 3 a 5 partos, con un promedio de 122.30 ± 8.60 días en leche y una condición corporal de 2.5 a 3.5 (escala del 1 al 5 donde 1 = emaciada y 5 = obesa). Un total de 86 sementales y 226 vacas de raza Holstein formaron parte del pedigree. La compañía distribuidora de semen proporcionó la información referente al número de hijas y los registros genéticos (PTAs) por semental, mientras que los establos participantes en el estudio proporcionaron los registros productivos y reproductivos por vaca.

Las vacas se alojaron en corrales con sombra y libre acceso a bebederos. Se les ofreció una dieta alimenticia consistente en 45 % de heno de alfalfa, 20 % de ensilaje de maíz y 35 % de concentrado energético comercial, para cubrir los requerimientos nutricionales recomendados por el NRC para ganado lechero en lactación, con peso promedio de 650 kg y producción aproximada de 30 kg/d de leche. La composición promedio de la dieta incluyó 5.0 % de grasa y 17.5 % de proteína.

La producción de leche se determinó durante la ordeña realizada dos veces al día (5 am y 5 pm), para lo cual se utilizó un sistema de pesaje electrónico con escala de 0 a 40 kg (Metatron 21, Westfalia Surge, México, S.A. de C.V., Aguascalientes, MX) integrado al sistema de ordeño. Además, se realizó en forma periódica el diagnóstico de mastitis subclínica a través de la prueba de California en muestras de leche.

Después del período de partos previo, el cual ocurrió en la época de primavera, las vacas fueron revisadas con equipo de ultrasonografía a los días 30, 45 y 60 postparto para determinar el grado de involución uterina y de desarrollo folicular ovárico. A los 60 días posteriores al parto, se inició un tratamiento hormonal para la sincronización de la ovulación en todas las vacas incluidas en el estudio (n = 362), que consistió en la aplicación intramuscular (IM) de 100 µg de GnRH, más 25 mg de PGF2α una semana después, y una segunda aplicación de 100 µg de GnRH a las 48 h posteriores.



Al siguiente día se realizó la técnica recto-cervical de inseminación artificial (IA), mientras que a los 30 días posteriores a la IA se determinó la tasa de preñez a través de ultrasonografía trans-rectal. Esta última medición permitió determinar la variable de tasa de preñez a primer servicio (TPS). Se registró además el número de servicios por IA requeridos para lograr la concepción en cada vaca (SPC). Finalmente, la variable de días abiertos (DA) se calculó al substrair la cantidad de 282 d (duración de la gestación en bovinos) al intervalo entre dos partos consecutivos.

Indicador climático

Los datos de humedad relativa (HR) y de temperatura ambiental (TA) durante el período experimental se obtuvieron a través de consulta en la red climática de Agroson (www.agroson.org.mx). Dichos registros fueron empleados para calcular el índice de temperatura-humedad (ITH) usando la siguiente fórmula: $ITH = 0.81 TA + HR (TA - 14.4) + 46.4$ (Hahn, 1999).

De acuerdo a los valores de ITH (unidades) obtenidos durante el período experimental y usando la escala establecida por Zimbelman *et al.* (2009), el grado de estrés calórico existente se clasificó como: ausencia de estrés por calor (< 68), umbral (68 a 72), moderado (73 a 79) y severo (> 79).

Recolección de sangre, extracción de ADN y selección de SNPs

Muestras sanguíneas de cada vaca fueron recolectadas a través de punción de la vena coccígea. Posteriormente, se depositaron 5 - 6 gotas de sangre en tarjetas *FTA-Cards™* (Fast technology for analysis of nucleic acids; GeneSeek). Las tarjetas se enviaron al Laboratorio Neogen/Geneseek para la extracción y cuantificación de ADN de cada muestra sanguínea, y para el análisis de genotipificación.

Genes pertenecientes al eje de señalización GH/IGF1 se localizan en una región que incluye 23 Mb dentro del cromosoma bovino 5 (BTA5); dichos genes participan en diversos mecanismos fisiológicos relacionados con la fertilidad (Farber *et al.*, 2006). Uno de estos genes, el gen PAPP2, fue re-secuenciado facilitando la identificación de los SNP rs109952914 y rs384230354, siguiendo los procedimientos indicados por Rincón *et al.* (2009).

Análisis estadístico

Los valores promedio y frecuencias de los caracteres evaluados se calcularon usando los procedimientos MEANS y FREQ para variables continuas y categóricas, respectivamente. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas fueron probados a través del procedimiento UNIVARIATE (Littell *et al.*, 2002). Las frecuencias de alelos y genotipos para cada polimorfismo y las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg fueron calculadas usando el procedimiento ALLELE (Saxton *et al.*, 2004).

El estudio asociativo se llevó a cabo empleando un modelo estadístico de efectos mixtos por medio de los procedimientos MIXED y GLIMMIX para variables continuas (SPC y DA) y categóricas (TPS), respectivamente. Para el procesa-

miento estadístico de la información se empleó el programa SAS (Statistical Analysis System) versión 9.3, que incluyó los procedimientos para análisis de genes (Saxton *et al.*, 2004). El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + e_{ijkl}, \text{ Proc Mixed/Glimmix, donde:}$$

$$\begin{aligned} y_{ijkl} &= \text{rasgo de fertilidad,} \\ \mu &= \text{valor promedio o frecuencia,} \\ A_i &= \text{efecto fijo del genotipo del SNP,} \\ B_j &= \text{efecto fijo de la edad,} \\ C_k &= \text{covariable de los días en leche,} \\ D_l &= \text{efecto aleatorio del semental, y} \\ e_{ijkl} &= \text{error residual del experimento.} \end{aligned}$$

Si la expresión del genotipo fue detectada como una fuente de variación ($P < 0.05$) a partir del modelo estadístico asociativo, se procedió entonces a utilizar el procedimiento LSMEANS (opción PDIF) para realizar las comparaciones entre los valores genotípicos promedio, considerando el ajuste Bonferroni (Weir, 2001). El efecto de sustitución alélica se determinó usando un modelo de regresión que incluyó el efecto alélico como covariable (Falconer y Mackay, 1996). Los efectos genéticos dominantes y aditivos se obtuvieron utilizando la metodología establecidos por Luna-Nevarez *et al.* (2011). El efecto de dominancia o aditividad de los alelos del SNP del gen PAPP2 fue confirmado a través de análisis de contrastes lineales y cuadráticos.

RESULTADOS

Los datos ambientales que se observan en la Figura 1 muestran que las vacas incluidas en este estudio estuvieron expuestas a condiciones climáticas que variaron de umbral de estrés por calor en marzo, a estrés por calor moderado a mediados de junio, confirmando la presencia de un clima cálido.

La Tabla 1 muestra los valores promedio para los principales caracteres reproductivos del periodo postparto en ganado bovino Holstein productor de leche. Dichos resultados son indicativos de una fertilidad postparto apropiada en los establos lecheros en los cuales se realizó el presente estudio. La variabilidad asociada a los caracteres reproductivos mostró una tendencia normal.

Las frecuencias alélicas y genotípicas para los SNPs rs109952914 y rs384230354 se observan en la Tabla 2. Ambos SNPs cumplen con los requisitos para marcadores genéticos al mostrar una frecuencia del alelo menor superior al 10 % ($FAM > 0.10$) y encontrarse en equilibrio Hardy-Weinberg ($P > 0.05$). Sin embargo, únicamente el SNP rs109952914 resultó ser predictor para las tres variables reproductivas (TPS, SPC y DA) en el análisis estadístico asociativo ($P < 0.05$). Por lo tanto, sólo los resultados de este polimorfismo fueron reportados en el presente estudio.

La Tabla 3 muestra los valores promedio (\pm error estándar) para las variables reproductivas analizadas con respecto a los tres genotipos del SNP rs109952914 del gen PAPP2. El genotipo favorable fue el TT ($P < 0.05$) debido a que mostró

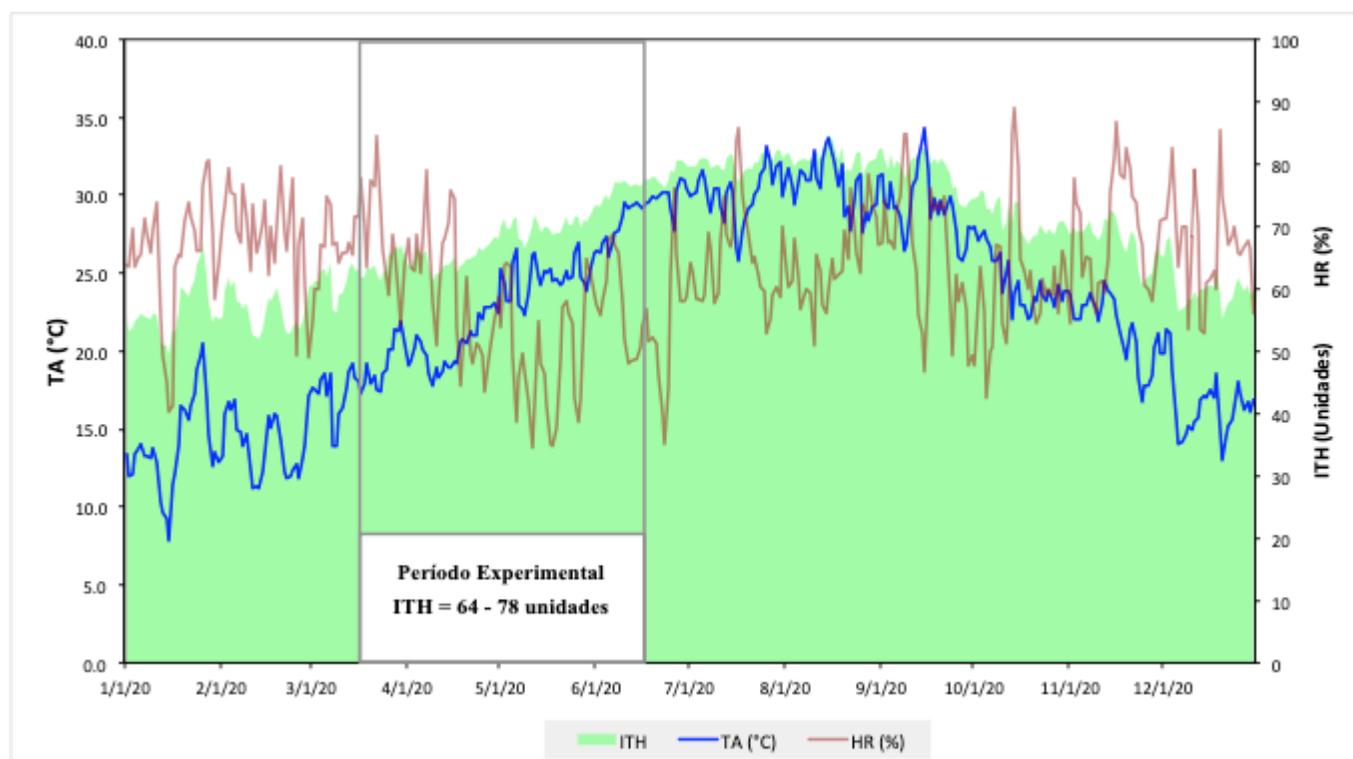


Figura 1. Valores promedio para temperatura ambiental (TA, °C), humedad relativa (HR, %) e indicador temperatura-humedad (ITH, unidades) en el Valle del Yaqui durante el período experimental (Desde marzo 15 hasta junio 15).

Figure 1. Average values for ambient temperature (AT, °C), relative humidity (RH, %) and temperature-humidity index (THI, units) in the Yaqui Valley during the experimental period (i.e., march 15 through June 15).

Tabla 1. Valores promedio \pm EE para caracteres reproductivos postparto en vacas Holstein.

Table 1. Average values \pm SE for postpartum reproductive traits in Holstein cow.

Caracter reproductivo	N	Media \pm EE
Tasa de preñez a primer servicio	362	57.6 \pm 2.87
Servicios por concepción	362	1.95 \pm 0.04
Días abiertos	360	122.30 \pm 8.60

valores de 66.70 ± 1.80 %, 1.76 ± 0.06 servicios y 91.22 ± 3.92 días, para las variables de TPS, SPC y DA, respectivamente. Por otra parte, el genotipo menos favorable resultó ser AA ya que mostró valores promedio de 38.80 ± 2.60 %, 2.30 ± 0.12 servicios y 159.80 ± 6.40 días, para los caracteres de TPS, SPC y DA, respectivamente.

La contribución del alelo favorable del SNP rs109952914, que resultó ser el alelo T, se observa en el efecto estimado de sustitución alélica (SA) en la Tabla 4, al igual que los efectos fijos de aditividad y dominancia. El efecto de SA indica un incremento estimado de 12.60 % en TPS, así como una reducción de 0.16 en SPC y de 19.52 en DA, por cada alelo favorable

T que esté presente en el genotipo del SNP. Los efectos fijos indican una tendencia lineal o aditiva, ya que la contribución positiva en la fertilidad mejoró en forma progresiva por la presencia de uno o más alelos favorables.

El efecto del semental resultó ser significativo, lo cual indica que la variación causada por los sementales fue considerada adecuadamente dentro del modelo estadístico empleado.

DISCUSIÓN

El manejo reproductivo de la vaca Holstein durante el período postparto es de gran importancia para la rentabilidad de los establos lecheros, ya que después de un período de descanso voluntario de 2 a 3 meses es necesario que la vaca reinicie su actividad reproductiva, ello con el fin de alcanzar los 2 parámetros más representativos que son la obtención de un parto/año y una lactancia de 305 días/año (Carvalho *et al.*, 2014; Kok *et al.*, 2019; Westwood *et al.*, 2002; Dominguez-Castaño *et al.*, 2020).

Tabla 2. Frecuencias alélicas y genotípicas para SNPs del gen PAPP2 evaluados por su asociación con las variables de tasa de preñez a primer servicio, servicios por concepción y días abiertos.

Table 2. Allele and genotype frequencies for PAPP2 SNPs evaluated due to its association with the traits first service pregnancy, services per conception and days open.

SNP	Gen	Frecuencias alélicas		Frecuencias genotípicas		
rs109952914	PAPP2	A = 0.18	T = 0.82	AA = 0.03	AT = 0.30	TT = 0.67
rs384230354	PAPP2	A = 0.74	G = 0.26	AA = 0.55	AG = 0.38	GG = 0.07

Tabla 3. Medias de cuadrados mínimos \pm EE para caracteres reproductivos postparto entre genotipos del SNP rs109952914 dentro del gen PAPP2 en vacas Holstein.**Table 3.** Least square means \pm SE for postpartum reproductive traits among genotypes from the SNP rs109952914 within the PAPP2 gene in Holstein cows.

Caracter	N	Medias de cuadrados mínimos \pm EE			Prob
		AA	AT	TT	
TPS	362	38.80 \pm 2.60 ^a	54.10 \pm 1.90 ^b	66.70 \pm 1.80 ^c	0.0153
SPC	362	2.30 \pm 0.12 ^a	2.02 \pm 0.08 ^b	1.76 \pm 0.06 ^c	0.0215
DA	360	159.80 \pm 6.40 ^a	123.90 \pm 5.91 ^b	91.22 \pm 3.92 ^c	0.0027

Caracter = Variables reproductivas incluidas en el estudio (TPS = Tasa de preñez a primer servicio; SPC = Servicios por concepción; DA = Días abiertos); N = Número total de animales incluidos en el estudio; ^{a,b,c} indican diferencia estadística entre medias de cuadrados mínimos por genotipo de acuerdo al modelo estadístico; Prob = Valor de la probabilidad estadística para la comparación entre genotipos.

Tabla 4. Efectos de sustitución alélica y efectos fijos de aditividad y dominancia para el alelo favorable del SNP rs109952914 del gen PAPP2.**Table 4.** Substitution allelic effects and fixed additive and dominance effects for the favorable allele from the SNP rs109952914 within the PAPP2 gene.

Caracter	Alelo Fav	Efecto de sustitución alélica			Efectos fijos		
		Prob ^a	Estimado ^b	EE ^c	Prob ^d	Aditivo ^e	Dominante ^f
TPS	T	0.0246	12.60	1.32	0.0239	13.95	1.35
SPC	T	0.0234	-0.16	0.05	0.0414	0.20	0.10
DA	T	0.0089	-19.52	5.64	0.0089	14.30	8.40

Caracter = Variables reproductivas analizadas (TPS = Tasa de preñez a primer servicio; SPC = Servicios por concepción; DA = Días abiertos); Alelo Fav = Alelo favorable para el SNP rs109952914.

^a Significancia estadística para el efecto estimado.

^b Valor estimado del efecto alélico expresado en unidades del caracter reproductivo.

^c Error estandar para el efecto estimado.

^d Significancia estadística para los efectos fijos.

^e Efecto aditivo calculado como la diferencia entre los dos genotipos homocigotos dividida entre 2.

^f Efecto dominante calculado como la diferencia entre el promedio de los genotipos homocigotos menos el valor del genotipo heterocigoto.

Uno de los factores que mas afecta a la vaca lechera es el clima, sobre todo cuando éste se caracteriza por un calor intenso gran parte del año capaz de inducir la presencia de estrés por calor (EC) en el ganado, lo cual dificulta la obtención de los 2 parámetros productivos antes mencionados (Gernand *et al.*, 2019; Vinet *et al.*, 2024). Sin embargo, se han detectado vacas Holstein que a pesar de estar expuestas a condiciones severas de EC, son capaces de mostrar un comportamiento reproductivo adecuado, lo cual sugiere que dichas vacas podrían ser portadoras de genes asociados a la habilidad de termo-tolerancia (Leyva-Corona *et al.*, 2018, Proaño-Morales *et al.*, 2021).

Las condiciones ambientales en los establos lecheros ubicados en el sur de Sonora México se caracterizan por períodos prolongados de temperatura ambiental y humedad relativa altas a través del año, lo cual eleva el ITH por encima del umbral de 68 unidades a mediados de la primavera (Rivera-Acuña *et al.*, 2015). A medida que las condiciones ambientales cálidas se vuelven más intensas al final de la primavera, el ITH se eleva en forma constante alcanzando su punto máximo en el verano, para después disminuir en el otoño. Este clima caluroso es único en el noroeste de México y crea condiciones adversas de estrés por calor para el ganado, lo cual brinda la oportunidad de estudiar las bases genéticas de la termotolerancia en ganado Holstein lactante (Hernández-Cordero *et al.*, 2018; Zamorano-Algandar *et al.*, 2023).

El presente estudio identificó un SNP (rs109952914) del gen PAPP2 (Proteína Plasmática Asociada a la Preñez-A2), perteneciente al eje endócrino GH/IGF1, como predictor de las variables reproductivas de TPS, SPC y DA ($P < 0.05$). El genotipo favorable de dicho SNP fue el genotipo TT, el cual mostró una importante contribución de cada alelo T sobre los rasgos de fertilidad evaluados en vacas Holstein expuestas a condiciones de estrés por calor. Estos resultados sugieren la participación del gen PAPP2 como un potencial predictor de la conducta reproductiva postparto en ganado Holstein (Leyva-Corona *et al.*, 2018). Esto se atribuye al papel regulador que ejerce PAPP2 sobre la bio-disponibilidad del IGF1, el cual es considerado como el principal marcador asociado a la mayoría de las funciones reproductivas en el organismo animal (Velazquez *et al.*, 2008; Luna-Nevarez *et al.*, 2012; Gobikrushanth *et al.*, 2018).

El IGF1 que circula libre en la sangre es captado por las proteínas de enlace IGFBP3 a IGFBP5, las cuales inhiben el contacto del IGF1 con sus receptores en la superficie celular (Mense *et al.*, 2018). El gen PAPP2 codifica la síntesis de una metaloproteasa que incrementa la biodisponibilidad del IGF1, ya que se une a las proteínas IGFB3 e IGFBP5 facilitando su disociación, causando la liberación del IGF1 y modulando sus acciones sobre el aparato reproductor (Nishizawa *et al.*, 2008; Barrios *et al.*, 2021).

Los efectos de substitución alélica reportados en este estudio confirman la aportación favorable que tiene el SNP rs109952914 del gen PAPP2 sobre los caracteres reproductivos analizados, ya que la presencia del alelo favorable de este SNP incrementa la TPS y reduce las variables de SPC y DA, en vacas Holstein manejadas bajo condiciones de clima cálido extremo típicas del sur del estado de Sonora. Además, el efecto aditivo mostrado por el SNP rs109952914 confirmó el efecto positivo del alelo favorable T sobre la fertilidad del ganado.

Los resultados anteriores proporcionan evidencia para considerar al SNP rs109952914 del gen PAPP2 como un SNP candidato para ser incluido en programas de selección asistida por marcadores (SAM), para mejorar la fertilidad en ganado bovino lechero bajo condiciones de estrés por calor. Esta estrategia para identificar SNPs o genes candidatos resulta de gran utilidad en programas de mejoramiento de la fertilidad cuando el ganado es expuesto a condiciones ambientales de calor extremo (Dikmen *et al.*, 2015; Sigdel *et al.*, 2020). Tales condiciones son típicas del sur de Sonora, donde los valores genéticos de predicción para sementales comerciales deberían considerar la interacción genotipo-ambiente para aumentar su precisión (Zamorano-Algandar *et al.*, 2021). Lo anterior facilitaría la selección para mejorar fertilidad y tolerancia al calor en ganado Holstein manejado en climas extremos (Shi *et al.*, 2021).

La identificación y validación de genes candidatos ha sido reportada exitosamente en vacas Holstein para caracteres de producción de leche (Hernández-Cordero *et al.*, 2017; Halli *et al.*, 2021), resistencia a enfermedades (Shabalina *et al.*, 2020) y termo-tolerancia (Halli *et al.*, 2021; Zamorano-Algandar *et al.*, 2023); en ganado de carne para caracteres de comportamiento (Sarti *et al.*, 2019) y caracteres de la canal (Karisa *et al.*, 2013); así como en ovinos para caracteres de termo-tolerancia (Luna-Nevárez *et al.*, 2021) y fertilidad (Castillo-Salas *et al.*, 2023).

La selección en base a genes o SNPs candidatos promete ser una potencial herramienta para la mejora genética de la fertilidad en vacas Holstein manejadas en el sur de Sonora (Contreras-Méndez *et al.*, 2024). Las condiciones ambientales afectan la expresión genética, e influyen tanto en la fisiología como en el comportamiento del ganado (Hansen, 2020); por lo tanto, la identificación de SNPs o genes candidatos en ganado manejado bajo estrés por calor, permite categorizar las vacas de acuerdo a su capacidad de adaptación y habilidad reproductiva en ambientes cálidos adversos (Mota *et al.*, 2020). Al respecto, la participación de genes como el PAPP2 ha sido también reportada por su contribución favorable al mérito genético de caracteres de producción y fertilidad en vacas Holstein tales como vida productiva, facilidad al parto, tasa de gestación a primer servicio, servicios por concepción y días abiertos (Wickramasinghe *et al.*, 2011; Zamorano-Algandar *et al.*, 2021).

Finalmente, es importante mencionar que la variación causada por el efecto del semental sobre las variables reproductivas analizadas en el presente estudio fue considerada

dentro del modelo estadístico, al igual que en estudios previos de nuestro grupo (Leyva-Corona *et al.*, 2018; Rodríguez-Borbón *et al.*, 2023). Al respecto, sería interesante conocer si los sementales utilizados cuentan con el genotipo favorable para el SNP rs109952914 del gen PAPP2; sin embargo, el ADN del semental no estaba disponible para su estudio genético ya que proviene de una compañía comercial distribuidora de semen. Actualmente, el genotipo del semental es reconocido como un factor importante que afecta la fertilidad del hato, por lo que novedosas tecnologías genómicas han sido propuestas para su estudio, con el fin de predecir su contribución en el desempeño de sus hijas (Pacheco *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

Un polimorfismo del gen PAPP2 (rs109952914) resultó ser un potencial predictor de la fertilidad postparto en ganado bovino Holstein expuesto a condiciones ambientales de clima cálido. El alelo favorable de dicho polimorfismo incrementó el porcentaje de gestación a primer servicio, y redujo los servicios por concepción y los días abiertos. Por lo anterior, se propone al SNP rs109952914 del gen de la Proteína Plásmática Asociada a la Preñez 2 (PAPP2) como candidato para utilizarse en sistemas de selección asistida por marcadores genéticos, con el fin de mejorar la fertilidad postparto en vacas Holstein manejadas bajo el clima caluroso que prevalece la mayor parte del año en el sur de Sonora y que ocasiona estrés por calor en el ganado.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los establos participantes del Valle del Yaqui por facilitar los animales e instalaciones requeridas para el presente estudio. Se agradece también a los estudiantes que apoyaron en la recolección de información y a los tesisistas involucrados en el análisis de datos. Este proyecto fue patrocinado por el programa de apoyo a proyectos de investigación "UCMEXUS-CONACYT Grant Program (2010)".

CONFLICTOS DE INTERES

No existe ningún conflicto de interés en la realización del presente estudio de investigación.

REFERENCIAS

- Angulo-Valenzuela, N.I., Thomas, M.G., Riley, D.G., Medrano, J.F., Reyna-Granados, J.R., Aguilar-Trejo, C.M. y Luna-Nevárez, P. 2021. A SNP within the PMCH gene as a molecular marker associated with fertility traits in Angus and Brangus beef heifers raised under a desert environment. *Tropical Animal Health and Production*. 53(3): 355.
- Barrios, V., Chowen, J.A., Martín-Rivada, Á., Guerra-Cantera, S., Pozo, J., Yakar, S., Rosenfeld, R.G., Pérez-Jurado, L.A., Suárez, J. y Argente, J. 2021. Pregnancy-associated plasma protein (PAPP)-A2 in physiology and disease. *Cells*. 10(12): 3576.
- Carvalho, P.D., Souza, A.H., Amundson, M.C., Hackbart, K.S., Fuenzalida, M.J., Herlihy, M.M., Ayres, H., Dresch, A.R., Vieira, L.M., Guenther, J.N., Grummer, R.R., Fricke, P.M., Shaver, R.D.

- y Wiltbank, M.C. 2014. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97(6): 3666-3683.
- Castillo-Salas, C.A., Luna-Nevárez, G., Reyna-Granados, J.R., Luna-Ramirez, R.I., Limesand, S.W. y Luna-Nevárez, P. 2023. Molecular markers for thermo-tolerance are associated with reproductive and physiological traits in Pelibuey ewes raised in a semiarid environment. *Journal of Thermal Biology*. 112: 103475.
- Contreras-Méndez, L.A., Medrano, J.F., Thomas, M.G., Enns, R.M., Speidel, S.E., Luna-Nevárez, G., López-Castro, P.A., Rivera-Acuña, F. y Luna-Nevárez, P. 2024. The anti-Müllerian hormone as endocrine and molecular marker associated with reproductive performance in Holstein dairy cows exposed to heat stress. *Animals (Basel)*. 14(2): 213.
- Daetwyler, H.D., Schenkel, F.S., Sargolzaei, M. y Robinson, J.A. 2008. A genome scan to detect quantitative trait loci for economically important traits in Holstein cattle using two methods and a dense single nucleotide polymorphism map. *Journal of Dairy Science*. 91(8): 3225-3236.
- Del Río-Avilés, A.D., Correa-Calderón, A., Avendaño-Reyes, L., Macías-Cruz, U., Thomas, M.G., Enns, R.M., Speidel, S.E., Sánchez-Castro, M.A., Zamorano-Algandar, R., López-Castro, P.A. y Luna-Nevárez, P. 2022. Mineral supplementation (injectable) improved reproductive performance in Holstein cows managed in a warm summer environment. *Reproduction in Domestic Animals*. 57(8): 839-848.
- Dikmen, S., Wang, X.Z., Ortega, M.S., Cole, J.B., Null, D.J. y Hansen, P.J. 2015. Single nucleotide polymorphisms associated with thermoregulation in lactating dairy cows exposed to heat stress. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 132(6): 409-419.
- Dominguez-Castaño, P., Vargas de Oliveira, M.H., El Faro, L. y de Vasconcelos Silva, J.A.I. 2020. Relationship between reproductive and productive traits in Holstein cattle using multivariate analysis. *Reproduction in Domestic Animals*. 55(7): 770-776.
- Falconer, D.S. y McKay, T.C.F. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4th Ed. Longman Scientific and Technical, New York, NY.
- Farber, C. R., Corva, P.M. y Medrano, J.F. 2006. Genome-wide isolation of growth and obesity QTL using mouse speed congenic strains. *BMC Genomics*. 7: 1-17.
- Gernand, E., König, S. y Kipp, C. 2019. Influence of on-farm measurements for heat stress indicators on dairy cow productivity, female fertility, and health. *Journal of Dairy Science*. 102(7): 6660-6671.
- Gobikrushanth, M., Purfield, D.C., Colazo, M.G., Wang, Z., Butler, S.T. y Ambrose, D.J. 2018. The relationship between serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) concentration and reproductive performance, and genome-wide associations for serum IGF-1 in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 101(10): 9154-9167.
- Hahn, G.L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal of Animal Science*. 77: 10-20.
- Halli, K., Vanvanhossou, S.F., Bohlouli, M., König, S. y Yin, T. 2021. Identification of candidate genes on the basis of SNP by time-lagged heat stress interactions for milk production traits in German Holstein cattle. *PLoS One*. 16(10): e0258216.
- Hansen, P.J. 2020. Prospects for gene introgression or gene editing as a strategy for reduction of the impact of heat stress on production and reproduction in cattle. *Theriogenology*. 154: 190-202.
- Hansen, P.J., Drost, M., Rivera, R.M., Paula-Lopes, F.F., Al-Katanani, Y.M., Krininger, C.E. y Chase, C.C. Jr. 2001. Adverse Impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology*. 55: 91-103.
- Hernández-Cordero, A.I., Sánchez-Castro, M., Zamorano-Algandar, R., Luna-Nevárez, P., Rincón, G., Medrano, J.F., Speidel, S.E., Enns, R.M. y Thomas, M.G., 2017. Genotypes within the prolactin and growth hormone insulin-like growth factor-I pathways associated with milk production in heat stressed Holstein cattle. *Genetics and Molecular Research*. 16(4): gmr16039821.
- Karisa, B.K., Thomson, J., Wang, Z., Bruce, H.L., Plastow, G.S. y Moore, S.S. 2013. Candidate genes and biological pathways associated with carcass quality traits in beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 93(3): 295-306.
- Kok, A., Lehmann, J.O., Kemp, B., Hogeveen, H., van Middelaar, C.E., de Boer, I.J.M. y van Knegsel, A.T.M. 2019. Production, partial cash flows and greenhouse gas emissions of simulated dairy herds with extended lactations. *Animal*. 13(5): 1074-1083.
- Leyva-Corona, J.C., Reyna-Granados, J.R., Zamorano-Algandar, R., Sanchez-Castro, M.A., Thomas, M.G., Enns, R.M., Speidel, S.E., Medrano, J.F., Rincon, G. y Luna-Nevarez, P. 2018. Polymorphisms within the prolactin and growth hormone/insulin-like growth factor-1 functional pathways associated with fertility traits in Holstein cows raised in a hot-humid climate. *Tropical Animal Health and Production*. 50(8): 1913-1920.
- Littell, R.C., Stroup, W.W. y Freund, R.J. 2002. *SAS for linear models*. 4th Ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Luna-Nevarez, P., Rincon, G., Medrano, J.F., Riley, D.G., Chase, C.C., Coleman, S.W., VanLeeuwen, D.M., DeAtley, K.L., Islas-Trejo, A., Silver, G.A. y Thomas, M.G. 2011. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone-insulin-like growth factor axis in straightbred and crossbred Angus, Brahman, and Romosinuano heifers: population genetic analyses and association of genotypes with reproductive phenotypes. *Journal of Animal Science*. 89: 926-934.
- Luna-Nevarez, P., Rincon, G., Medrano, J.F., Riley, D.G., Chace, C. Jr., Coleman, S.W., DeAtley, K.L., Islas-Trejo, A., Silver, G.A. y Thomas, M.G. 2012. Identificación de un polimorfismo del gen PAPP-A2 asociado a la fertilidad en vaquillas Romosinuano criadas en subtropico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 3(2): 185-200.
- Mense, K., Heidekorn-Dettmer, J., Wirthgen, E., Brockelmann, Y., Bortfeldt, R., Peter, S., Jung, M., Höflich, C., Hoeflich, A. y Schmicke, M. 2018. Increased concentrations of insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-2, IGFBP-3, and IGFBP-4 are associated with fetal mortality in pregnant cows. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. 9: 310.
- Mota, L.F.M., Lopes, F.B., Fernandes Júnior, G.A., Rosa, G.J.M., Magalhães, A.F.B., Carvalheiro, R. y Albuquerque, L.G. 2020. Genome-wide scan highlights the role of candidate genes on phenotypic plasticity for age at first calving in Nellore heifers. *Science Reports*. 10(1): 6481.



- Nishizawa, H., Pryor-Koishi, K., Suzuki, M., Kato, T., Kogo, H., Sekiya, T., Kurahashi, H. y Udagawa, Y. 2008. Increased levels of pregnancy-associated plasma protein-A2 in the serum of pre-eclamptic patients. *Molecular Human Reproduction*. 14: 595-602.
- Pacheco, H.A., Rossoni, A., Cecchinato, A. y Peñagaricano, F. 2022. Deciphering the genetic basis of male fertility in Italian Brown Swiss dairy cattle. *Science Reports*. 12(1): 10575.
- Proaño-Morales, A.B., Luna-Nevárez, G., Medrano, J.F., Thomas, M.G., Enns, R.M., Speidel, S.E., Zamorano-Algandar, R., Sánchez-Castro, M.A., Leyva-Corona, J.C. y Luna-Nevárez, P. 2021. Marcadores genéticos asociados a un indicador de tolerancia al estrés por calor en vacas Holstein lactantes del sur de Sonora México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*. 17(2): 55-62.
- Rincon, G., Farber, E.A., Farber, C.R., Nkrumah, J.D. y Medrano, J.F. 2009. Polymorphisms in the STAT6 gene and their association with carcass traits in feedlot cattle. *Animal Genetics*. 40(6): 878-82.
- Rivera-Acuña, F., Prado-Martinez, E., Luna-Nevarez, P., Mendez-Castillo, M.G., Avendano-Reyes, L., Hernández-Chávez, J.F., Espinoza-Villavicencio, J.L., Hernandez-Ceron, J. y Correa-Calderon, A. 2015. Induction of lactation in Holstein cows using progesterone injections or progesterone vaginal inserts. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 5(1): 13-20.
- Rodríguez-Borbón, A., Medrano, J.F., Thomas, M.G., Enns, R.M., Speidel, S.E., Torres-Simental, J.F., Rivera-Acuña, F., Hernández-Chávez, J.F. y Luna-Nevárez, P. 2023. Polymorphisms within the IGF1 and IGF1R genes associated with superovulation-related traits in Holstein dairy cows managed in a semiarid environment. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 11(4): 2023029.
- SAGARPA, 2020. Situación actual de la producción de leche de vaca a nivel mundial, nacional, estatal, distrital y por municipio 2019.. *Boletín de Leche de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. México.
- Sarti, F.M., Ceccobelli, S., Lasagna, E., Di Lorenzo, P., Sbarra, F., Pieramati, C., Giontella, A. y Panella, F., 2019. Influence of single nucleotide polymorphisms in some candidate genes related to the performance traits in Italian beef cattle breeds. *Livestock Science*. 230: 103834.
- Saxton, A.M., Balzarini, M.G., Cappio-Borlino, A., Czika, W., Fry, J.D., Gibson, G., Guerra, J.L.L., Kang, M.S., Macciotta, N.P.P., Pulina, G., Rosa, G.J.M., Saxton, A.M., Stalder, K.J., Tempelman, R.J., Wolfinger, R., Xu, C., Xu, S. y Yu, X. 2004. Genetic analysis of complex traits using SAS. SAS Institute, Inc., North Carolina.
- Shabalina, T., Yin, T. y König, S. 2020. Survival analyses in Holstein cows considering direct disease diagnoses and specific SNP marker effects. *Journal of Dairy Science*. 103(9): 8257-8273.
- Shi, R., Brito, L.F., Liu, A., Luo, H., Chen, Z., Liu, L., Guo, G., Mulder, H., Ducro, B., van der Linden, A. y Wang, Y. 2021. Genotype-by-environment interaction in Holstein heifer fertility traits using single-step genomic reaction norm models. *BMC Genomics*. 22(1): 193.
- Sigdel, A., Liu, L., Abdollahi-Arpanahi, R., Aguilar, I. y Peñagaricano, F. 2020. Genetic dissection of reproductive performance of dairy cows under heat stress. *Animal Genetics*. 51(4): 511-520.
- Tresoldi, G., Schütz, K.E. y Tucker, C.B. 2018. Cooling cows with sprinklers: Timing strategy affects physiological responses to heat load. *Journal of Dairy Science*. 101(12): 11237-11246.
- Vaishnav, S., Chauhan, A., Ajay, A., Saini, B.L., Kumar, S., Kumar, A., Bhushan, B. y Gaur, G.K. 2003. Allelic to genome wide perspectives of swine genetic variation to litter size and its component traits. *Molecular Biology Reproduction*. 50(4): 3705-3721.
- Velazquez, M.A., Spicer, L.J. y Wathes, D.C. 2008. The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. *Domestic Animal Endocrinology*. 35(4): 325-342.
- Vinet, A., Mattalia, S., Vallée, R., Bertrand, C., Barbat, A., Promp, J., Cuyabano, B.C.D. y Boichard, D. 2024. Effect of temperature-humidity index on the evolution of trade-offs between fertility and production in dairy cattle. *Genetic Selection Evolution*. 56(1): 23.
- Wanapat, M., Dagaew, G., Sommai, S., Matra, M., Suriyapha, C., Prachumchai, R., Muslykhah, U. y Phupaboon, S. 2024. The application of omics technologies for understanding tropical plants-based bioactive compounds in ruminants: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 15(1): 58.
- Wang, X., Maltecca, C., Tal-Stein, R., Lipkin, E. y Khatib, H. 2008. Association of bovine fibroblast growth factor 2 (FGF2) gene with milk fat and productive life: An example of the ability of the candidate pathway strategy to identify quantitative trait genes. *Journal of Dairy Science*. 91: 2475-2480.
- Weir, B.S. 2001. Forensics. Page 725 in *Handbook of Statistical Genetics*. D. J. Balding, M. Bishop, and C. Cannings Eds. John Wiley and Sons, LTD, New York, NY.
- West, J.W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 86: 2131-2144.
- Westwood, C.T., Lean, I.J. y Garvin, J.K. 2002. Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: a multivariate description. *Journal of Dairy Science*. 85(12): 3225-3237.
- Wickramasinghe, S., Rincon, G. y Medrano, J.F. 2011. Variants in the pregnancy-associated plasma protein-A2 gene on Bos taurus autosome 16 are associated with daughter calving ease and productive life in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 94: 1552-1558.
- Yodklaew, P., Koonawootrittriron, S., Elzo, M.A., Suwanasopee, T. y Laodim, T. 2017. Genome-wide association study for lactation characteristics, milk yield and age at first calving in a Thai multibreed dairy cattle population. *Agriculture and Natural Resources*. 51(3): 223-230.
- Zamorano-Algandar, R., Medrano, J.F., Thomas, M.G., Enns, R.M., Speidel, S.E., Sánchez-Castro, M.A., Luna-Nevárez, G., Leyva-Corona, J.C. y Luna-Nevárez, P. 2023. Genetic markers associated with milk production and thermotolerance in Holstein dairy cows managed in a heat-stressed environment. *Biology (Basel)*. 12(5): 679.
- Zamorano-Algandar, R., Sánchez-Castro, M.A., Hernández-Cordero, A.I., Enns, R.M., Speidel, S.E., Thomas, M.G., Medrano, J.F., Rincón, G., Leyva-Corona, J.C., Luna-Nevárez, G., Reyna-Granados, J.R. y Luna-Nevárez, P. 2021. Molecular marker prediction for days open and pregnancy rate in Holstein cows managed in a warm climate. *Livestock Science*. 250: 104536.
- Zhao, Y.X., Gao, G.X., Zhou, Y., Guo, C.X., Li, B., El-Ashram, S. y Li, Z.L. 2022. Genome-wide association studies uncover genes associated with litter traits in the pig. *Animal*. 16(12): 100672.
- Zimbelman, R.B., Rhoads, R.P., Rhoads, M.L., Duff, G.C., Baumgard, H. y Collier, R.J. 2009. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high-producing dairy cows. In: *Proc 24th Southwest Nutrition and Management Conference*, 158-169.