

## Determinación de la frecuencia alélica del gen *Slick* asociado a resistencia al estrés calórico en bovinos *Criollos Yacumeños* del Centro Pecuario “Yabaré” en Santa Cruz, Bolivia

Juan Antonio Pereira; Ariel Loza; Fanny Méndez; Yobana Sandoval

Facultad de Ciencias Veterinarias, Carrera de Medicina Veterinaria,  
Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: antonios8@hotmail.com

**Resumen.** El trabajo de investigación se realizó en el *Laboratorio de Investigación y Diagnostico Veterinario “PROVETSUR”*, de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FVC) de la Universidad Gabriel René Moreno (UAGRM). El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia alélica del gen *Slick* (BTA20), asociado a la resistencia al estrés térmico en bovinos de la raza “*Criollo Yacumeño*”. El trabajo consistió en analizar, mediante técnicas de biología molecular, el ADN de 34 animales del biotipo “*Criollo Yacumeño*”, dependiente de la FCV-UAGRM y como grupo control 31 bovinos de la raza SENEPOL del hato de la cabaña CETABOL. De los animales se extrajo muestras de sangre (3 a 5 ml) por vena coccígea; las muestras fueron remitidas al *Laboratorio PROVETSUR*, donde se realizó la extracción del ADN genómico, utilizando el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification (Promega Corporation USA, 2010), se verificó la calidad y cantidad de ADN extraído mediante geles de agarosa y un espectrofotómetro (Eppendorf de 260 a 280 nm) para luego realizar el amplificado mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR-RFLP (propuesto por Schaenkel 2004). Los geles fueron visualizados y analizados por un transiluminador y registrados con una cámara digital fotográfica. La frecuencia alélica y genotípica se determinó mediante los programas MS-Tools y Genepop 4. Los resultados obtenidos de las frecuencias alélicas para el polimorfismo BTA20, en el grupo del *Criollo*, fueron los siguientes: para el alelo favorable (G) en el SNP-1 fue de 0,14 y en el SNP-2 fue de 0,03. Las frecuencias alélicas para el alelo opuesto (A) en el SNP-1 fue de 0,86 y en el SNP-2 fue de 0,97 ( $P < 0.05$ ). Para el SENEPOL (grupo control), el alelo favorable G fue en el SNP-1 de 0,11 y en el SNP-2 fue de 0,14. La frecuencia alélica para el alelo opuesto A en el SNP-1, fue de 0,89, mientras que en el SNP-2, fue de 0,86. Con respecto al alelo favorable (G), se puede indicar que las frecuencias génicas encontradas en el SNP-1 y SNP-2 son muy bajas (0,14 y 0,03, respectivamente), pero suficiente para determinar que el *Criollo Yacumeño* presenta la mutación del gen *Slick* de pelo corto.

**Palabras clave:** Estrés térmico; Gen *Slick*; Mutación; *Criollo Yacumeño*

### Introducción

Los procesos biológicos de aclimatación a ambientes determinados, siempre han sido un punto de estudio de suma importancia en la producción animal (Coubrough 1985, Finch 1986, Hammond *et al.*

1996). De hecho, desde que el hombre hace unos 12 mil años atrás domesticó a los animales, marcó determinadas características en las especies domésticas. El ganado vacuno no es una excepción y existen varios indicios que apuntan a una co-evolución entre el hombre y los bovi-

nos. Los bovinos fueron acompañando al humano en su travesía alrededor del mundo y se fueron adaptando a diferentes ambientes.

Este proceso de aclimatación fue estudiado por la biología evolutiva, la cual visualiza las relaciones entre genotipos (o fenotipos) y el éxito reproductivo en los denominados paisajes adaptativos (Wright 1932). La aclimatación de los bovinos *Criollos* a los diferentes ecotipos de Bolivia, siguió el patrón propuesto por Wright y el ganado *Criollo* que llegó a las tierras bajas, se adaptó a las condiciones climáticas subtropicales (Vargas 2013).

En el caso de la producción bovina en la parte baja de Bolivia (departamentos de Beni, Pando, Santa Cruz y parte de los departamentos de Chuquisaca y Tarija) esta adaptación a las condiciones subtropicales, extremadamente húmedas o secas y con estaciones marcadas de lluvia y sequía, toman mayor relevancia. Dependiendo del ambiente, los bovinos pierden calor principalmente por vía sensible (radiación, convección y conducción) o por vía evaporativa (jadeo y sudor). Los bovinos son homeotermos capaces de mantener la temperatura corporal, a pesar de las fluctuaciones en la temperatura ambiental (West 2003, Stott 1981, Silanikove 2000).

El proceso adaptativo bovino al continente americano, comienza con el segundo viaje de Cristóbal Colón en el año 1493 (Pinzón 1981). En nuestro país el ganado *Criollo* se adaptó a altitudes muy diferentes: altiplano, valles y llanos orientales con sus dos características llanuras inundadizas (*Pampas Benianas*) y secas (*Chaco Boliviano*). Este proceso fue exitoso, ya que Colón trajo menos de 50 cabezas al continente y estas se reprodu-

jeron de tal manera que lograron, a su manera, conquistar también las nuevas tierras en este vasto continente.

Dentro de este proceso, un evento marcó la pauta para que el ganado se adapte de mejor forma al trópico y sub trópico sudamericano. En algún momento de este largo proceso se produjo una mutación que coadyuvó a la adaptación de este *Bos taurus* venido de climas fríos e incorporados a las llanuras tropicales de Venezuela y Colombia (Olson et al. 2002, 2003). La adaptabilidad a climas semi-tropicales y tropicales, es mayor en individuos que poseen pelo más corto y recto (De Alba 2011). Esto se debió a una mutación en un gen mayor, el gen *Slick*, el cual es dominante en su modo de herencia. El efecto fenotípico del gen *Slick* es producir un pelaje muy corto delgado en el ganado (Olson et al. 2003). Este gen posteriormente se introdujo a la raza SENEPOL y a través de esta última raza, al Holstein norteamericano (Mariasegaram et al. 2007).

El presente trabajo pretende aportar más pruebas científicas que demuestren la superioridad del ganado *Criollo* con relación a las razas foráneas traídas al continente hace apenas dos siglos. Además de tomar mucha importancia debido a que por el cambio climático, las temperaturas del planeta están subiendo y el ganado más adaptado a estas altas temperaturas tendrá una mayor ventaja sobre el ganado no resistente al calor.

En este sentido, el objetivo central del trabajo fue calcular la frecuencia alélica y genotípica del gen *Slick* en el ganado *Criollo Yacumeño* perteneciente a la Facultad de Ciencias Veterinarias (Pereira et al. 2011).

## Materiales y métodos

El trabajo consistió en analizar mediante técnicas de biología molecular, el ADN de 34 animales del biotipo “Criollo Yacumeño” dependiente de la FCV-UAGRM, y como grupo control, 31 bovinos de la raza SENEPOL del hatu de la cabaña CETABOL.

De los animales se extrajo muestras de sangre de 3 a 5 ml por vena coccígea, las muestras fueron remitidas al Laboratorio PROVETSUR, donde se realizó la extracción del ADN genómico utilizando el kit comercial *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega Corporation USA, 2010), se verificó la calidad y cantidad de ADN extraído, mediante geles de agarosa y un espectrofotómetro (Eppendorf de 260 a 280 nm) para luego realizar el amplificado mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR-RFLP (propuesto por Schenkel 2006). Los geles fueron visualizados y analizados por un transiluminador y registrados con una cámara digital fotográfica. La frecuencia alélica y genotípica se determinó mediante los programas MS-Tools y Genepop 4.

Para determinar la frecuencia alélica y genotípica para el presente estudio, se diseñaron dos marcadores que están asociados al lugar donde se encuentra el gen *Slick*. Los marcadores diseñados fueron

los SNP's rS42343907 (SNPs-1) - rS132939689 (SNPs-2).

Se logró diseñar y estandarizar una técnica molecular basada en la reacción de cada de la polimerasa (PCR) alelo específico a partir de las regiones (rS42343907 y rS132939689) del gen de la termo tolerancia en bovinos. Esto se logró a partir de un chip procesado en un iScan de Illumina.

Las muestras de animales con una tasa total de SNP>90% fueron exportados en formato PLINK (rango: 3841-3941) denominados alelos A y G. Para determinar los haplotipos en el *locus Slick* de un conjunto aproximado de 22.000 SNP en el cromosoma 20.

Estos datos fueron analizados utilizando el procedimiento Fast Fase propuesto por Scheet y Stephens (2006), con un ajuste de una ventana de 50-SNP y la identidad de haplotipo por análisis se completó utilizando el Script PERL, todo este análisis fue realizado en el *Instituto de Genética Veterinaria* (IGEVET) de la Universidad Nacional de la Plata en Argentina (Cuadro 1).

El patrón de la PCR alelo específico para los genotipos a analizar en el presente estudio se muestran en el Cuadro 2.

**Cuadro 1.** Marcadores moleculares diseñados a partir de las regiones rS42343907 y rS132939689 del gen de la termo tolerancia en bovinos

SNP	Sentido	Secuencia
SNP-1 (rS42343907)	F	5' AAGGCGAGGAGCTGTTTAAG 3'
	F	5' CTAAGTGCCTCACAAGGACGA 3'
	R	5'CCCTCCACGATGCCAAAGT 3'
SNP-2 (rS132939689)	F	5'GGCGTGAACCACGAGAAGTATAA 3'
	F	5'CCCTCCACGATGCCAAAGT 3'
	R	5'ATGAGAATTTTCAAGATTGTGTCTAACCTT 3'

**Cuadro 2.** Patrón de la PCR alelo específico para los genotipos AA, AG y GG de gen *Slick*

Tamaño del fragmento (pb)	AA	AG	GG
353		-	-
182	-	-	

El gen favorable, en este caso el gen que mutó para que los bovinos *Bos taurus* puedan tener mejor tolerancia al estrés térmico, de las regiones cálidas de América del Sur, es el alelo “G”, mientras que el alelo no favorable “A” es el gen que no tiene acción significativa para que el animal desarrolle la mencionada tolerancia.

## Resultados y discusión

Los resultados de las frecuencias alélicas y genotípicas se presentan en el Cuadro 3.

Se puede observar que la frecuencia alélica encontrada en el presente estudio para el alelo favorable (G) en el SNP-1 fue de 0,14 y en el SNP-2 fue de apenas 0,03. Las frecuencias alélicas para el alelo opuesto (A) en el SNPs-1 fue de 0,86 y en el SNPs-2 fue de 0,97.

Con respecto al alelo favorable, se puede indicar que ambas frecuencias génicas son muy bajas (0,14 y 0,03), pero suficientes para determinar que el *Criollo Yacumeño* presenta la mutación para pelo corto. Esto es de importancia fundamental para los criadores de la raza Criolla en Bolivia, ya que este resultado da un valor agregado al ganado *Criollo* boliviano.

Este resultado toma mayor importancia en la coyuntura actual, donde se observa cambios drásticos en el clima del planeta, con una tendencia a que la temperatura

aumente varios grados significativamente, lo cual hará que solamente aquellos individuos resistentes al estrés térmico mantengan su producción, sea de carne o leche, al igual que sus índices reproductivos. Esto está ya demostrado en estudios realizados en Estados Unidos:

- El pelaje *Slick* se mapea en el cromosoma 20 en ganado vacuno SENEPOL (Mariasegaram et al. 2007).
- Genes involucrados en la tolerancia térmica del ganado, donde pudieron medir objetivamente el mejor rendimiento reproductivo de animales Holstein en condiciones de estrés térmico en el estado de Florida.

El Cuadro 3, además, presenta las frecuencias genotípicas para ambos SNP estudiados. Las frecuencias genotípicas encontradas para el SNP1 fueron de 0,7, 0,3 y 0,0 para los genotipos AA, AG y GG respectivamente. En el SNP2 se observó la siguiente frecuencia genotípica: 0,9, 0,1 y 0,0 para los genotipos AA, AG y GG respectivamente. Se observa que no se encontró ningún animal homocigoto para el alelo favorable (GG) en ninguno de los marcadores estudiados. Este aspecto es la razón de por qué las frecuencias génicas del alelo favorable son realmente pequeñas. Solo se encuentra el alelo favorable en pocos individuos heterocigotos (AG): 10 para el SNP-1 y apenas 2 individuos para el SNP-2 (ver Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Frecuencias genotípicas y alélicas del SNPs1 (rS42343907) y SNPs2 (rS132939689) en bovinos *Criollo Yacumeño* de Santa Cruz

Marcador	Frecuencia genotípica			Frecuencia alélica	
SNP-1 (rS42343907)	AA (24)	AG (10)	GG (0)	A=	0,86
	0,7	0,3	0,0	G=	0,14
SNP-2 (rS132939689)	AA (32)	AG (2)	GG (0)	A=	0,97
	0,9	0,1	0,0	G=	0,03

No es posible realizar comparaciones de las frecuencias génicas y genotípicas encontradas en este estudio, con datos similares, puesto que el presente estudio constituye el primer análisis a nivel mundial de frecuencia para las regiones rS4234907 y rS32939689 del gen *Slick*, pero a manera de información se hace notar las frecuencias alélicas del gen *Slick* en el ganado Limonero, encontrados en otros estudios.

Con el propósito de comparar los resultados de las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas en el ganado *Criollo*, en el presente estudio se trabajó como grupo control con un hato de ganado SENEPOL. Esto se realizó en el entendido que esta raza es reconocida -por varios trabajos científicos- como portadora del gen *Slick*.

El Cuadro 4 muestra las frecuencias del gen *Slick* para la raza SENEPOL considerado como control en este estudio, al ser esta raza la que actualmente porta el gen *Slick*.

La frecuencia alélica encontrada en el ganado SENEPOL para el alelo favorable (G) en el SNP-1 fue de 0,11 y en el SNP-2 fue de 0,14. Las frecuencias alélicas para el alelo opuesto (A) en el SNPs-1 fue de 0,89 y en el SNPs-2 fue de 0,86.

Con respecto al alelo favorable, se puede indicar que ambas frecuencias génicas son bajas (0,11 y 0,14).

El Cuadro 4, además, presenta las frecuencias genotípicas para ambos SNP estudiados. Las frecuencias genotípicas encontradas para el SNP1 fueron de 0,9, 0,1 y 0,0 para los genotipos AA, AG y GG respectivamente. En el SNP2 se observó la siguiente frecuencia genotípica: 0,8, 0,2 y 0,0 para los genotipos AA, AG y GG respectivamente.

Al igual que para el ganado *Criollo*, el ganado SENEPOL muestreado en este estudio, no presento ningún animal homocigoto para el alelo favorable (GG) en ninguno de los marcadores estudiados. Solo se encuentra el alelo favorable en pocos individuos heterocigotos (AG): 7 para el SNP-1 y 9 individuos para el SNP-2 (ver Cuadro 3).

Al igual que con el ganado *Yacumeño*, estos valores no pueden ser comparados con otros estudios realizados, ya que los SNP's utilizados fueron diseñados exclusivamente para este estudio. Sin embargo, se puede concluir que efectivamente el SENEPOL posee mayor frecuencia génica, comparada con el *Criollo*, aunque tampoco se encontró ningún animal homocigoto con el alelo favorable (GG).

Los resultados obtenidos fueron muy satisfactorios ya que se logró demostrar la presencia del gen *Slick* en el ganado *Criollo Yacumeño*.

**Cuadro 4.** Frecuencia genotípica y alélicas del SNPs1 (rS42343907) y SNPs2 (rS132939689) en bovinos SENEPOL de Santa Cruz

Marcador	Frecuencia genotípica			Frecuencia alélica	
	AA (24)	AG (7)	GG (0)	A=	G=
SNP-1 (rS42343907)	0,9	0,1	0,0	0,89	0,11
SNP-2 (rS132939689)	0,8	0,2	0,0	0,86	0,14

## Conclusiones

- El estudio reporta los primeros resultados a nivel nacional, utilizando técnicas moleculares de la frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo BTA20 del gen *Slick* que actúa sobre el estrés térmico en bovinos de raza *Criolla Yacumeña* que son conservados en el departamento de Santa Cruz.
- Se ha logrado determinar la frecuencia alélica del polimorfismo BTA20, asociado al estrés térmico en los bovinos *Criollo Yacumeño* de la cabaña Yabaré. Aunque las frecuencias génicas y genotípicas encontradas fueron bajas, el hecho de haber encontrado la presencia del gen *Slick* es prueba suficiente para determinar que estos animales presentan la mutación para pelo corto.
- La presencia del gen *Slick* en el bovino *Criollo Yacumeño*, abre los horizontes para poder utilizarlo para “introducir” genes de resistencia al estrés calórico, mediante cruzamiento a las razas lecheras o cárnicas poco adaptadas al clima tropical de los Llanos Orientales de Bolivia. Con estos resultados se sugiere que ASOCRIOLLO incluya en sus reglamentos de registro, la necesidad de genotipificar animales *Criollos* para encontrar animales heterocigotos u homocigotos con el gen favorable (G) y mediante selec-

ción, aumentar las frecuencias génicas y genotípicas de este gen en la población del ganado bovino *Criollo* de Bolivia.

## Referencias citadas

- Coubrough R. 1985. Stress and fertility A. Review. Onderstepoort J. Vet. Res. 52(3): 153-6. Review.
- De Alba J. 2011. El libro de los Bovinos Criollos de América. Colegio de Posgraduados, Mexico.
- Finch V. 1986. Body temperature in beef cattle: Its control and relevance to production in the tropics. J. Anim. Scin. 62, 531-542.
- Hammond A., Olson T. Chase C. Jr., Bower E., Randel R., Murphy C., Vogt D., Tewolde A. 1996. Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano. Compared with Brahman Angus, and Hereford cattle in Florida. Journal of Animal Science. 74, 295-303.
- Mariasegaram M., Chase Jr. C., Caparro J., Olson, Breneman R., Niedz R. 2007. The *slick* hair locus maps to chromosome 20 in Senepol-derived cattle. Anim. Genet. 38: 54-59.
- Nielsen R. 2000. Estimation of population parameters and recombination rates from single nucleotide polymorphisms”. Genetics 154(2): 931.

- Olson T., Avila-Chitil M., Hansen P., Coleman S. 2002. Impacto de la diferencia en la capa de pelo sobre la temperatura rectal, temperatura de la piel y ritmo respiratorio de cruces Holstein \* Senepol en Florida EE.UU. Simposio Senepol, Santa Cruz, Islas Vírgenes. p. 11.
- Olson T., Lucena C., Chase C., Hammond A. 2003. Evidence of major gene influencing hair length and heat tolerance in *Bos taurus* cattle. *Journal of Animal Science*. 81, 80 -90.
- Pinzon E. 1981. Historia de la ganadería bovina en Colombia. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Pereira J., Posik D. Hoyos R., Lirón P., Loza A., De Luca C., Peral-García P. 2011. Evaluación del efecto de la fragmentación poblacional del bovino Criollo Yacumeño sobre la diversidad mitocondrial. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. Vol. I. pp.157-160.
- Scheet P., Stephens M. 2006. A fast flexible statistical model for large-scale population genotype data: Applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase, *The American Journal of Human Genetics*. 78: 629-644.
- Schenkel F., Jiang Z., Mendell I., Ye X., Li H., Wilton J. 2014. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, Volume 84, Issue 2, February 2006, pages 291–299. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.2527/2006.842291x>
- Silanikove N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of managed domestic ruminants. *Livest Prod. Sci*. 67: 1-18.
- Stott G. 1981. What is animal stress and how is it measured? *J. Anim. Sci*. 52: 150-153.
- Vargas M. 2013. El Bovino Criollo Yacumeño. IICA.
- West J. 2003. Effects of heat stress on production in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*. 86: 2131-2144.