

PUBLICADO EN LA XXIV REUNION INTERNACIONAL DE CARNE Y LECHE EN CLIMAS CÁLIDOS.
MAZATLAN SINALOA MÉXICO. NOVIEMBRE DE 2014.

ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DEL GEN SOCS2 ASOCIADO A MAYOR DESEMPEÑO PRODUCTIVO EN VACAS HOLSTEIN CRIADAS EN UNA REGIÓN CALIDA DE MEXICO

STUDY OF THE GENE POLYMORPHISMS OF THE SOCS2 ASSOCIATED WITH HIGHER MILK PERFORMANCE IN HOLSTEIN COWS RAISED IN A WARM REGION OF MEXICO

Leyva CJC¹, Duarte AJM¹, Pino BAE¹, Milton TG², Rincon G³, Medrano JF³, Avendaño RL⁴, Correa CA⁴ y Luna NP¹.

¹ *Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias del Instituto Tecnológico de Sonora. Calle 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro, Cd. Obregón, Sonora, México. C.P. 85000 jose.leyva@itson.mx*

² Department of Animal Science, Colorado State University, CO. EUA

³ Department of Animal Science, University of California, Davis CA. EUA

⁴ Instituto de Ciencias Agrícolas, UABC. Ejido Nuevo León. México.

RESUMEN

El gen SOCS2 es un regulador de la lactancia dentro del eje somatotrópico en la vacas bajo un clima cálido. El objetivo del estudio fue identificar un polimorfismo asociado a mayor desempeño productivo en ganado lechero criadas en una región cálida de México. Se genotipificó el ADN de 261 vacas Holstein criadas en el sur de Sonora de nueve variantes del gen SOCS. Un modelo mixto analizó el efecto fijo del genotipo sobre los registros productivos de cada vaca. Los genotipos AG y GG del SOCS2-3 mostraron el mejor desempeño productivo para las variables productivas de leche ($P < 0.05$), detectándose que cada vez que el alelo G está presente en la población se esperan 466.9 y 1.5 kg de leche adicionales en una lactancia de 305 d. Los resultados sugieren un gen candidato en vacas Holstein relacionado con mayor producción de leche en la región cálida del sur de Sonora.

Palabras clave: SNP, SOCS, leche, eficiencia, estrés calórico.

INTRODUCCIÓN

El estrés por calor rompe la armonía productiva de la vaca lechera en zonas cálidas como el sur de Sonora, donde se rebasan los requerimientos térmicos de la raza Holstein la mayor parte del año, siendo necesarias alternativas para producir leche de forma más económica bajo ambientes cálidos (Leyva *et al.*, 2008). Sin embargo, la curva de lactancia en algunas vacas es menos afectada bajo condiciones térmicamente adversas y es posible que una región génica o alguna variante en sus genes le confieran esa capacidad (Mariasegaram *et al.*, 2007). Se han reportado polimorfismos del gen supresor de la señal de las citoquinas (SOCS2) con mayor eficiencia productiva en el bovino; este gen está involucrado en el eje funcional de la hormona del crecimiento (GH), IGF1 y prolactina (McCarty *et al.*, 2009; Winkelman *et al.*, 2008), por lo que identificar variantes de este gen en la población de ganado lechero de la zona sur de Sonora, puede ser una alternativa para contrarrestar los efectos negativos de menor producción de leche en verano. Por tal motivo, el objetivo del estudio fue identificar polimorfismos del gen SOCS asociados con mayor producción de leche en una población de ganado Holstein del sur de Sonora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó una población ($n=239$) de ganado Holstein de un establo comercial ubicado en el Block 910 del valle del Yaqui. Se extrajo una muestra de sangre por punción en la vena coccígea para depositar 4-5 gotas de sangre distribuidas en tarjetas *Blood-CardsTM*, las cuales se enviaron al Lab. Neogen/GenSeek Inc., USA, para la extracción (Gentra Puregene DNA Isolation Kit, Gentra, Minneapolis, MN, 55441) y cuantificación de ADN, así como la posterior genotipificación de nueve variantes polimórficas correspondientes a los genes del SOCS (SOCS-1, SOCS-2, SOCS-3, SOCS-4, SOCS-5, SOCS-6, SOCS-7, SOCS-8 y SOCS-9). Varios ensayos en PCR se ejecutaron para la genotipificación; la técnica de espectrometría de masas (MALDITOF) fue utilizada para identificar la secuencia primaria y los alelos localizados en el sitio polimórfico. En la última fase de la plataforma comercial "Sequenom Mass Array" se transcribe (SpectroTYPER) la masa del iniciador específico en el genotipo correspondiente para cada reacción (Luna *et al.*, 2012).

Las variables analizadas en el estudio fueron: *Leche total (Ltotal)*: leche (kg) producida por vaca en una lactancia completa); *Promedio total (Promtotal)*: promedio de leche (kg) producida por vaca/día; *Leche 305 (L305)*: Cantidad de leche (kg) por una vaca ajustada a 305 días; *Promedio 305 (Prom305)*: producción promedio por vaca/día ajustada a 305 días; *Días pico (DPico)*: tiempo en días que tarda una vaca para alcanzar su pico máximo de producción; y *Leche pico (Lpico)*: leche (kg) producida por vaca en su máxima producción láctea; fueron colectadas (años 2012 y 2013) y organizadas en el programa Excel. La estadística descriptiva para las variables antes mencionadas fueron calculadas con el procedimiento MEANS en el paquete estadístico SAS (SAS, 2004). El procedimiento ALLELE estimó la frecuencia alélica y de genotipos, así como el equilibrio de *Hardy-Weinberg (HW)*, mientras que el procedimiento MIXED ejecutó la asociación del valor fenotípico (variables productivas) con el efecto fijo del genotipo de cada polimorfismo. La opción PDIFF del procedimiento LSMEANS fue ejecutada para la comparación de medias incluyendo el ajuste Bonferroni. Como criterio de inclusión de polimorfismos al estudio asociativo, solo se incluyeron aquellos con una frecuencia mayor al 10% en su alelo menor ($FAM > 10\%$). El efecto individual del alelo sobre el fenotipo dentro de la población, fue estimado mediante substitución alélica en un modelo de regresión, incluyendo el genotipo como covariable (Falconer y MacKay, 1996). Los efectos de dominancia y aditividad fueron estimados (Sherman *et al.*, 2008), utilizando un análisis de contrastes (lineales y cuadráticos) para confirmar si el efecto individual de los alelos de cada gen fue aditivo o dominante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra las medias de las variables productivas en la población de estudio, mientras que la tabla 2 presenta las frecuencias de alelos y genotipos para el polimorfismo SOCS que cumplió la condición $FAM > 10\%$ y la de *No Equilibrio* ($P > 0.05$) en la prueba de HW. Una frecuencia entre el 5 al 10% del alelo menor es requerida para evitar falso resultados (Balding, 2006). El polimorfismo que resultó marcador fue el SOCS-3 de acuerdo al $FAM > 0.10$ y no equilibrio HW ($P > 0.05$), el cual mostró una frecuencia de 0.2786 y 0.7213 para los alelos A y G respectivamente. Los genotipos AG y GG mostraron valores similares ($P < 0.05$) para L305, prom305, Ltotal y promtotal, los cuales fueron superiores ($P < 0.05$) al AA (Tabla 3). No hubo efecto de genotipo para Lpico o Dpico ($P = 0.3112$). Cada vez que el alelo

G del gen SOCS26233 estuvo presente, mejoró ($P < 0.05$) 466.9 kg, 1.5 kg, 454.5 kg y 1.2 kg de leche en las variables *L305*, *prom305*, *Ltotal* y *Promptotal* respectivamente.

Se ha comprobado incremento en la expresión del gen SOCS (en términos de RNA) en tejido hepático controlando el eje somatotrópico (GH, IGF; vía JAK/STAT) en diferentes etapas de lactancia (McCarthy *et al.*, 2009) así como decremento en su expresión durante el periodo seco en la glándula mamaria de vacas Holstein (Wall *et al.*, 2005). Se ha sugerido que combatir el efecto negativo del estrés calórico mediante enfriamiento artificial en vacas lecheras en su periodo seco, se movilizan lípidos al sensibilizarse la la expresión del SOCS al parto para la subsecuente lactancia (DoAmaral *et al.*, 2010).

En conclusión, el presente estudio sugiere que ante la prevalente exposición de la población de ganado Holstein a las condiciones cálidas del sur de Sonora, solo ciertos individuos activan mecanismos que involucran variantes génicas que les confieren el poder mantener una lactancia sin desacoplar el eje somatotrópico en verano.

Tabla 1. Valores promedio de los caracteres relacionados con la producción de leche en la población de vacas Holstein en el sur de Sonora.

Caracter	n	Media \pm EE
<i>L305 (kg)</i>	239	5,749.46 \pm 60.96
<i>Prom305, kg</i>	239	18.85 \pm 0.190
<i>Ltotal, kg</i>	239	6,110.92 \pm 94.22
<i>Promptotal, kg</i>	239	18.79 \pm 0.200
<i>LPico, kg</i>	239	30.64 \pm 0.380
<i>DPico, d</i>	239	70.92 \pm 3.860

PROC UNIVARIATE en SAS. Se eliminaron animales debido al cumplimiento de la prueba de Hardy Weinberg y número de polimorfismos que pudieron secuenciarse por la calidad de la muestra de ADN.

Tabla 2. Frecuencia alélicas y genotípicas del polimorfismo del gen SOCS (FAM >0.10).

Polimorfismo	Posición	Frec. Alélica (%)		Frec. Genotípicas (%)		
		A	G	AA	GA	GG
SOCS-3	BTA 5	0.2786	0.7213	.1311	.2951	.5738

Polimorfismos del gen SOCS considerado por criterio inclusión por FAM>10% y cumplió el supuesto de no equilibrio ($P > 0.05$) para la prueba de *Hardy-Weinberg*.

Tabla 3. Medias de cuadrados mínimos para caracteres de producción de leche entre los genotipos de un polimorfismo del gen SOCS.

Caracter	Polimorfismo SOCS-3			Prob
	AA (n=6)	AG (n=57)	GG (n=138)	
L305	4,639.61 ± 369.18 ^b	5,717.27 ± 143.52 ^a	5,575.21 ± 88.35 ^a	0.02
Prom305	15.21 ± 1.21 ^b	18.74 ± 0.47 ^a	18.27 ± 0.28 ^a	0.02
Ltotal	5,039.11 ± 419.11 ^b	6,128.61 ± 162.47 ^a	5,956.90 ± 99.26 ^a	0.05
PromTotal	15.55 ± 1.23 ^b	18.94 ± 0.47 ^a	18.26 ± 0.27 ^a	0.03
LPico	26.27 ± 2.22 ^a	30.14 ± 0.83 ^a	29.66 ± .47 ^a	0.26
Dpico	51.97 ± 28.79 ^a	63.97 ± 10.72 ^a	79.98 ± 6.06 ^a	0.31

^{a,b} Indican diferencia estadística entre medias de genotipo.

Tabla 4. Efectos de sustitución alélica para los genotipos favorables del polimorfismo del gen SOCS2-3

Caracter	Efectos de sustitución alélica	
	Valor estimado ± EE	Prob
L305	466.9 ± 196.8	0.02
Prom305	1.5 ± 0.64	0.02
Ltotal	454.5 ± 216.7	0.05
PromTotal	1.2 ± 0.66	0.03

Valores generados considerando al genotipo como covariable dentro de un modelo de regresión.

LITERATURA CITADA

Balding, DJ. 2006. A tutorial on statistical methods for population association studies. Nat. Rev. Genet. 7: 781-791

DoAmaral B.C., E.E. Connor, S. Tao, J. Hayen, J. Bubolz, and G.E. dahl. 2010. Heat-stress abatement during the dry period: Does cooling improve transition into lactation?. J. Dairy Sci. 92: 5988-5999.

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

Leyva J.C.C., Félix P.V., Luna N.P., Morales M.I.P. y Grageda J.G. 2008. Impacto de las condiciones climáticas de verano en el valle del Yaqui sobre el desempeño productivo del ganado lechero. XVIII Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos. Mexicali BC, México. Pp. 233-237.

Luna, N.P, Rincón G., Medrano J.F, Riley, DG, Chase CC, Coleman SW, DeAtleye KL, Islas AT, Silver GA, Thomas MG. 2012. Identification of one polymorphism from the PAPP-A2 gene associated to fertility in Romosinuano beef heifers raised under a subtropical environment. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3(2):185-200.

Mariasegaram, M., C. C. Chase Jr, J. X. Chaparro, T. A. Olson, R. A. Brenneman and R.P. Niedz. 2007. The slick hair coat locus maps to chromosome 20 in Senepol-derived cattle. *Animal Genetics* 38:54-59.

McCarthy, S.D., S.T. Butler, J. Patton, M. Daly, D.G. Morris, D. A. Kenny, and S.M. Waters. 2009. Differences in the expression of genes involved in the somatotropic axis in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows during early and mid lactation. *J. dairy Sci.* 92: 5229-5238.

SAS. SAS/STAT User's Guide, Software Version 9.1.2 Cary, NC: SAS Institute Inc., 2004. USA.

Sherman, E. L., J. D. Nkrumah, B. M. Murdoch, C. Li, Z. Wang, A. Fu, and S. S. Moore. 2008. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86:11-16.

Wall, E.H., T.L. Auchtung-Montgomery, G.E. Dahl and T.B. McFadden. 2005. Short communication. Short-day photoperiod during the dry period decreases expression of suppressors of cytokine signaling in mammary gland of dairy cows. *J. dairy Sci.* 88: 3145-3148.

Winkelman L.A., M.C. Lucy, T.H. Elsasser, J.L. Pate and C.K. Reynolds. 2008. Short communication: suppressor of cytokine signaling-2 mRNA increases after parturition in the liver of dairy cows. *J. dairy Sci.* 91: 1080-1086.