



XXIV Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal
XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal, A. G.
Puerto Varas, 9-13 de noviembre de 2015

El desafío de la selección genética de animales tolerantes al estrés por calor. El caso del ganado bovino lechero

María Jesús Carabaño¹

Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. de La Coruña km 7,5, 28040 Madrid, España.

The Challenge of genetic selection for heat tolerance. The dairy cattle example

Abstract. Exposure of livestock to high heat loads negatively affects animal productivity. In dairy cattle genetic selection to improve tolerance to heat stress (HS) through quantitative approaches has made use of milk production records together with meteorological information for the test date. The main conclusions arrived at by this approach have been: 1) there is genetic variability in individual productive responses to HS; 2) a genotype by environment interaction in productive potential exists between conditions of thermal comfort and stressful conditions, and 3) there is a genetic antagonism between HS tolerance and milk yield. This approach offers the advantage of adding no extra cost to the existing milk recording schemes, but it also has disadvantages. Current milk recording data do not seem to fully capture the productive responses to high heat loads. Moreover, the antagonism between HS tolerance and high milk production may offset the benefits of selection if tolerant animals are less productive. The use of new tools from phenomics, genomics, and transcriptomics can facilitate accurate selection for heat tolerance without hindering progress in milk yield. New phenotypes for this selection include measures of body temperature and respiration rate together with those of metabolites indicative of heat tolerance detectable in milk by mid infrared spectroscopy (MIR). Use of commercial DNA chips to perform genome wide association studies or comparison of whole genome DNA sequences of animals of heat-adapted and non-adapted temperate climate breeds could also provide useful genomic information. Finally, RNA sequencing combined with the recently discovered possibility of using milk transcription instead of tissue biopsies could help to identify differentially expressed genes under HS and thermally neutral conditions.

Key words: Dairy cattle, Genetic improvement, Heat tolerance, New tools

Resumen. La exposición del ganado a altas cargas térmicas tiene efectos negativos sobre los rendimientos productivos. En producción lechera, la selección de animales tolerantes al estrés por calor (EC) se ha abordado principalmente haciendo uso de los datos productivos recogidos en los controles lecheros y de los datos meteorológicos en los días del control. Las principales conclusiones de estos trabajos indican que 1) existe variabilidad genética en el patrón de la respuesta productiva individual al EC, 2) hay interacción genotipo-ambiente entre el potencial productivo en condiciones de confort térmico y en condiciones de EC, y 3) existe un antagonismo genético entre la tolerancia al EC y el nivel productivo. Este modo de proceder presenta la ventaja de no incurrir en gastos adicionales a los ya existentes del control lechero, pero también tiene desventajas. Por un lado, los datos de control lechero no parecen capturar toda la respuesta al aumento de carga térmica y por otro, el antagonismo con la producción puede anular la ganancia de tener animales que pueden mantener la tolerancia durante los meses de calor pero a costa de bajar su nivel de producción. El uso de nuevas herramientas de índole fenotípica, genómica y trascríptica puede facilitar una selección más certera de animales tolerantes al EC sin estorbar el progreso en el nivel productivo. Las opciones fenotípicas adicionales incluyen la temperatura corporal, el ritmo respiratorio y la

Recibido: 2015-11-26. Aceptado: 2015-12-01

¹Autor para la correspondencia: María Jesús Carabaño mjc@inia.es



concentración de metabolitos indicadores de EC en la leche medidas a partir de los espectros de infrarrojo medio. En relación a la información genómica, se cuenta con los chips de ADN para realizar estudios de asociación y con la comparación de secuencias de genomas de animales de razas adaptadas y no adaptadas al EC. El uso de herramientas transcriptómicas (RNAseq), junto con la recién descubierta posibilidad de usar el transcriptoma de la leche como alternativa a la recogida de muestras de tejidos, brinda también nuevas oportunidades para identificar genes y regiones genómicas que determinan la tolerancia al EC sin afectar los niveles productivos.

Palabras clave: Bovinos lecheros, Mejora genética, Nuevas herramientas, Tolerancia térmica

Introducción

El estrés fisiológico que produce la exposición a altas cargas térmicas tiene efectos negativos sobre los rendimientos productivos y reproductivos del ganado, así como sobre la tasa de morbilidad y mortalidad. Los animales especializados en la producción lechera sufren en mayor medida los efectos negativos del calor que los animales de razas cárnicas debido al elevado calor metabólico que se genera durante la producción de leche (Baumgard y Rhoads, 2012). Además, la elevada presión de selección para aumentar la producción lechera en el ganado bovino intensifica la vulnerabilidad de estos animales al estrés calórico (EC). Aún más, las predicciones sobre las consecuencias del cambio climático hacen esperar un agravamiento del problema del EC en las explotaciones lecheras en el futuro.

El impacto negativo del EC puede mitigarse de varias formas: 1) a través de mejoras en los alojamientos ganaderos, 2) a través de la selección genética de animales tolerantes al calor o del uso de razas adaptadas al calor y, 3) a través del manejo de la alimentación. Ninguna de las tres vías asegura una desaparición de los efectos de las altas cargas térmicas. Así, St-Pierre *et al.* (2003) estiman que las pérdidas por vaca asociadas al EC oscilan entre los 100 y los 167 \$USA por vaca en producción y año según se disponga, respectivamente, de un acondicionamiento óptimo o de establos con ventilación natural únicamente.

La vía de la selección genética de animales tolerantes representa una solución acumulativa y de efecto permanente, con un coste asociado relativamente bajo si se integra en esquemas de selección ya establecidos para otros caracteres. West (2003), en un estudio de revisión sobre los efectos del EC en ganado bovino lechero, concluye que la selección de animales tolerantes es posible y debería ser considerada para frenar el aumento en susceptibilidad al EC que supone la selección continuada por producción de leche. La selección de animales tolerantes al EC presenta, sin embargo, una serie de retos derivados de la complejidad de los mecanismos que determinan dicha tolerancia y del antagonismo con el nivel de producción.

En el trabajo presente se resumen los resultados de estudios previos sobre la respuesta fisiológica y genes asociados al EC, así como las posibles aproximaciones a la mejora genética de la tolerancia al calor, incluyendo el uso de nuevas herramientas de información genómica y transcriptómica y del llamado fenotipado fino (del inglés, "fine phenotyping").

Medida de la carga térmica

Una noción importante en el análisis del EC es la medida de la carga térmica que soportan los animales. En la carga térmica actúan distintas variables meteorológicas como son la temperatura ambiental, la humedad relativa del aire, la radiación solar y la velocidad y dirección del viento, si bien las más utilizadas son temperatura y humedad relativa. El índice de carga térmica que se ha convertido prácticamente en el estándar en los estudios de EC en bovinos lecheros es el recomendado por el NRC en 1971: $THI = (1.8 \times T + 32) - (0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times T - 26)$ [1], donde, T es la temperatura ambiental expresada en °C y RH es el porcentaje de humedad relativa.

Ravagnolo *et al.*, (2000) recomiendan el uso de la temperatura diaria máxima junto con la humedad relativa mínima en [1]. Asimismo, diferentes estudios han demostrado que los efectos del EC son máximos entre 24 y 48 h después de que se experimenten las altas temperaturas (ver, p.ej., West, 2003). A pesar de ser prácticamente el estándar en estudios sobre EC en ganado bovino lechero, no hay evidencias objetivas de que este índice sea óptimo para todas las razas, climas y sistemas productivos (Bohmanova *et al.*, 2007, Hammami *et al.*, 2013).

Consecuencias del estrés por calor en la producción lechera

El efecto del estrés por calor sobre la producción lechera en razas especializadas como la Holstein ha sido muy estudiado. La mayor parte de los estudios se orientan a la determinación del umbral de termotolerancia y de la pendiente de pérdida productiva en respuesta al aumento de la carga térmica que se produce después de dicho umbral. En cuanto al umbral de termotolerancia, se ha aceptado tradicionalmente el valor de 72 para el THI en [1]

(Ravagnolo *et al.*, 2000). Las estimas del umbral de termotolerancia en estudios recientes a partir de datos de control lechero en explotaciones comerciales oscilan entre valores de alrededor de 60 para poblaciones Holstein en Europa Central (Hammami *et al.*, 2013; Lambertz *et al.*, 2014) a valores por encima de 70 para poblaciones ubicadas en zonas más cálidas en EEUU y en el área mediterránea (Barash *et al.* 2001, Bernabucci *et al.*, 2014; Carabaño *et al.*, 2014). Estas diferencias podrían explicarse por el distinto tipo de climatología, con olas de calor puntuales en zonas más templadas de Europa Central, donde se observaría una respuesta aguda al EC, frente a zonas cálidas con temperaturas elevadas durante toda la época estival, en las que los animales pueden desarrollar un cierto grado de aclimatación al calor. Algunos estudios han detectado umbrales de termotolerancia más bajos para la producción de grasa y proteína que para la producción de leche (Bernabucci *et al.*, 2014, Carabaño *et al.*, 2014). Las estimaciones de las pendientes de pérdidas productivas oscilan ampliamente entre estudios, aunque en este caso, sin un patrón claro. Así, las pendientes de pérdida de leche oscila entre valores cercanos a 1 kg/d y grado de THI por encima del umbral de termotolerancia en el estudio de Bernabucci *et al.* (2014) en la Holstein italiana, hasta valores de alrededor de 100 g/d y grado de THI en la Holstein en Luxemburgo (Hammami *et al.*, 2013), Alemania (Lamberz *et al.*, 2014) y España (Carabaño *et al.*, 2014). En cuanto a la producción de grasa y proteína, se han observado pérdidas que oscilan entre los 30-40 g/d y grado de THI (Bernabucci *et al.*, 2014) y los 3-10 g/d y grado de THI en el resto de estudios. Los distintos métodos de análisis, edición de datos, sistemas de producción y tipo de clima pueden explicar las diferencias encontradas. Es pertinente resaltar que el uso de los controles lecheros mensuales sólo captura una parte de las pérdidas productivas asociadas al EC (Freitas *et al.* 2006).

Genes relacionados con el estrés por calor

La complejidad de la respuesta al EC se refleja en una variedad de mecanismos que actúan bajo control genético. Collier *et al.* (2008) agrupan estos genes en tres categorías: 1) los genes asociados a las propiedades del pelo y piel, donde Olson *et al.*, (2003) han detectado un gen mayor que regula el tipo de pelo; 2) genes involucrados en la respuesta celular y 3) genes relacionados con la respuesta sistémica al estrés térmico. Según estos mismos autores, los cambios de expresión en genes bajo efecto del EC incluyen: 1) activación del factor de transcripción de choque térmico 1 (HSF1); 2) aumento de la expresión de las proteínas de choque térmico (HSPs) y disminución de

la expresión y síntesis de otras proteínas, 3) aumento de la oxidación de glucosa y amino ácidos y reducción del metabolismo de ácidos grasos, 4) activación del sistema endocrino de respuesta a estrés y 5) activación del sistema inmune vía secreción extracelular de HSPs. Desde una perspectiva celular, Sonna *et al.* (2002) han resumido los cambios en expresión génica inducidos por EC en: 1) inhibición de la síntesis de ADN, de la transcripción a ARN y de la traducción; 2) inhibición de la progresión a través del ciclo celular; 3) desnaturalización y malagregación de proteínas; 4) aumento de la degradación de proteína; 5) disrupción de componentes del citoesqueleto; 6) alteraciones del metabolismo que conducen a una reducción neta del ATP celular y 7) cambios en la permeabilidad de la membrana celular que conducen a un aumento de iones Na⁺, H⁺ y Ca²⁺. Estos autores indican que si bien las HSPs son los principales genes que se activan con el EC hay aproximadamente otros 50 genes que también modifican su expresión bajo EC.

Hay por tanto un elevado número de genes asociados a la respuesta al EC, reforzando la idea de una base genética del carácter y la posibilidad de selección, pero también la complejidad del mismo.

Herramientas de selección

Selección por tolerancia de animales de razas lecheras especializadas

Desde los trabajos seminales de Misztal (1999) y Ravagnolo *et al.* (2000), en los que se demuestra que el uso conjunto de los datos de control lechero y de estaciones meteorológicas pueden proporcionar una medida de la tolerancia al EC y de su valor genético, ha habido una serie de trabajos orientados a la evaluación de las posibilidades de seleccionar animales de razas lecheras especializadas para ganar tolerancia al calor basados en esta metodología (Bohmanova *et al.*, 2005; Hammami *et al.*, 2013; Bernabucci *et al.*, 2014; Carabaño *et al.*, 2014). Las principales conclusiones de estos trabajos son que 1) existe una variabilidad en el patrón de la respuesta productiva individual al EC; 2) se observa una interacción genotipo-ambiente (GxE) entre el potencial productivo en condiciones de confort térmico y en condiciones de EC y la interacción GxE observada entre países para producción de leche se acentúa en condiciones de EC (Hammami *et al.*, 2014); 3) existe un antagonismo genético entre la tolerancia al EC y el nivel productivo. En resumen, si bien podría establecerse un sistema de evaluación genética barato para mejorar la respuesta productiva de los animales en los meses de calor, aprovechando la variabilidad existente para este carácter, este sistema presenta algunos inconvenientes. Por un lado, los datos de

control lechero no parecen capturar toda la respuesta al aumento de carga térmica y por otro, el antagonismo con la producción puede anular la ganancia de tener animales que toleran bien las altas temperaturas pero con un menor nivel de producción.

Uso de razas adaptadas

Las razas bovinas del tronco *Bos indicus* o algunas razas originarias del tronco *Bos taurus* pero criadas durante mucho tiempo en climas cálidos muestran una mayor regulación de la temperatura corporal bajo ambientes de alta carga térmica (Hansen, 2004). Los mecanismos que permiten esta regulación parecen venir de varias fuentes: las características de piel y pelo que facilitan la disipación del calor interno, unas menores tasas metabólicas, y una mayor capacidad cito-protectora, observada en células linfocitarias, ovocitos y en las primeras fases del desarrollo embrionario (Hansen, 2004).

Berman (2011) argumenta que la adaptación ancestral de estas razas a medios con una baja disponibilidad de alimentos, al menos de forma estacional, como consecuencia de las altas temperaturas, ha podido conducir a una selección de animales con una tasa metabólica más baja. Esto favorecería una mayor termotolerancia al EC, pero podría limitar un incremento de los niveles productivos aun cuando las condiciones nutricionales mejoran. Esto sería una desventaja de estas razas en explotaciones lecheras que pueden afrontar la mejora de los alojamientos para mitigar el efecto del calor y un manejo adecuado de la alimentación.

Nuevas herramientas para la selección de animales tolerantes al EC

A pesar de los avances en el conocimiento de los procesos fisiológicos, metabólicos y celulares que definen la respuesta al EC, quedan muchas incógnitas por resolver en la selección de animales tolerantes al EC, que a su vez sean capaces de mantener unos niveles productivos óptimos para garantizar la sostenibilidad económica. La disponibilidad de herramientas de caracterización transcripómica o genómica de animales sometidos a EC puede proveer de medios para avanzar en la separación de las vías de mejora de la tolerancia al EC. En los experimentos que comparan la expresión génica en condiciones de confort y de EC se han empleado los denominados *microarrays* de ARN. La secuenciación de ARN está desplazando el uso de estos *microarrays* (Wickramasinghe *et al.*, 2014). Otra potente

herramienta para la detección de genes o regiones genómicas asociadas a la tolerancia al EC es el uso de genotipos y de secuencias de ADN. En los estudios que han buscado la asociación entre marcadores SNP y fenotipos asociados a caídas en producción debidas al EC (Hayes *et al.*, 2009, Biffani *et al.*, 2015) se han detectado pocos genes o regiones genómicas asociados a EC, quizá porque el fenotipo utilizado es una medida burda de la tolerancia al EC. El uso de nuevos fenotipos en los estudios de asociación por un lado y la comparación de secuencias de ADN de animales de razas adaptadas frente a razas de áreas templadas por otro, pueden aportar información valiosa y complementaria sobre los mecanismos que determinan dicha adaptación (Dikmen *et al.* 2015).

Otro frente a explorar en la selección por tolerancia al EC es la búsqueda de fenotipos que permitan identificar de forma más precisa animales tolerantes y susceptibles. Este podría ser el caso de la temperatura corporal. Dikmen *et al.* (2012) han estimado una heredabilidad de 0.17 para este carácter. El inconveniente de esta medida es su relativamente alto coste de medida, que impide su uso en esquemas de selección a gran escala, si bien hay que tener en cuenta el desarrollo de aparatos de medición automatizada de coste cada vez más bajo. Otra alternativa para la obtención de fenotipos más finos en ganado lechero son los espectros de infrarrojo medio de la leche (utilizados de forma rutinaria para la predicción del contenido de grasa y proteína), que pueden ser calibrados con un coste no demasiado elevado para la determinación de metabolitos relacionados con la tolerancia al EC. El uso de esta herramienta en los esquemas de selección se está extendiendo de forma notable y ha sido explorada recientemente por Hammami *et al.* (2015) en relación al EC.

En definitiva, la selección para mejorar la tolerancia al EC presenta un desafío en la investigación dentro de la producción animal, pero existen a nuestra disposición herramientas genómicas y fenotípicas que junto con el diseño de una experimentación multidisciplinar permitirán avanzar en la identificación de los mecanismos que determinan la tolerancia del EC haciendo uso de material genético de razas seleccionadas y de razas adaptadas al calor.

Literatura Citada

Barash H., N. Silanikove, A. Shamay, and E. Ezra. 2001. Interrelationships among ambient temperature, day length and milk yield in dairy cows under a Mediterranean climate. *J. Dairy Sci.* 84:2314-2320.

Baumgard L. H. and R. P. Rhoads. 2012. Effects of environment on metabolism. In: R. J. Collier y J. L. Collier (Eds.). *Environmental Physiology of Livestock*. John Wiley and Sons, Inc. pp 81-100.



- Berman, A. 2011. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? *J. Dairy Sci.* 94: 2147-2158.
- Bernabucci, U., S. Biffani, L. Buggiotti, A. Vitali, N. Lacetera, and A. Nardone. 2014. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97:471- 486.
- Biffani, S., U. Bernabucci, N. Lacetera, A. Vitali, P. Ajmone Marsan, N. P. P. Macciotta, and A. Nardone. 2015. A GWAS on heat tolerance phenotypes for Italian Holstein bulls. Abstract W87. 2015 Joint ADSA-ASAS Annual Meeting, 12-16/07, Orlando, EEUU.
- Bohmanova J., I. Misztal, and J. B. Colet. 2007. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.* 90:1947-1956.
- Bohmanova J., I. Misztal, S. Tsuruta, H. D. Norman, and T. J. Lawlor. 2005. National genetic evaluations of milk yield for heat tolerance of United States Holsteins. *Interbull Bull.* 33:160-162.
- Carabaño M. J., K. Bachagha, M. Ramón, and C. Díaz. 2014. Modeling heat stress effect on Holstein cows under hot and dry conditions: Selection tools. *J. Dairy Sci.* 97:1-16.
- Collier R. J., J. L. Collier, R. P. Rhoads, and L. H. Baumgard. 2008. Invited review: Genes involved in the bovine heat stress response. *J. Dairy Sci.* 91:445-454.
- Dikmen S., J. B. Cole, D. J. Null, P. and J. Hansen. 2012. Heritability of rectal temperature and genetic correlations with production and reproduction traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:3401-3405.
- Dikmen S., X. Z. Wang, M. S. Ortega, J. B. Cole, D. J. Null, and P. J. Hansen. 2015. Single nucleotide polymorphisms associated with thermoregulation in lactating dairy cows exposed to heat stress. *J. Anim. Breed. Genet.* 32:409-419.
- Freitas, M. S., I. Misztal, J. Bohmanova, and J. West. 2006. Utility of on- and off-farm weather records for studies in genetics of heat tolerance. *Livest. Sci.* 105:223-228.
- Hammami H., J. Bormann, N. M'Hamdi, H. H. Montaldo, and N. Gengler. 2013. Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *J Dairy Sci* 96:1844-1855.
- Hammami M., M. J. Carabaño, B. Logar, M. L. Vanrobays, and N. Gengler. 2014. Genotype x climate interactions for protein yield using four European Holstein populations. 10th WCGALP, Vancouver, Canadá, 17-22/08.
- Hammami H., J. Vandenplas, M. L. Vanrobays, B. Rekik, C. Bastin, and N. Gengler. 2015. Genetic analysis of heat stress effects on yield traits, udder health, and fatty acids of Walloon Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 98:1-13.
- Hansen P. J. 2004. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:349-360.
- Hayes B. J., P. J. Bowman, A. J. K. Chamberlain, K. Savin, C. P. van Tassell, T. S. Sonstegard, and M. E. Goddard. 2009. A validated genome wide association study to breed cattle adapted to an environment altered by climate change. *PLoS ONE* 4(8).
- Lambertz, C., C. Sanker, and M. Gauly. 2014. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *J. Dairy Sci.* 97:319-329.
- Misztal, I. 1999. Model to study genetic component of heat stress in dairy cattle using national data *J. Dairy Sci.* 82(Suppl 1):32(Abstr.)
- Olson, T. A., C. Lucena, C. C. Chase, and A. C. Hammond. 2003. Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in *Bos taurus* cattle. *J. Anim. Sci.* 81:80-90.
- Ravagnolo O., I. Misztal, and G. Hoogenboom. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J. Dairy Sci.* 83:2120-2125.
- Sonna L. A., J. Fujita, S. L. Gaffin, and C. M. Lilly. 2002. Invited Review: Effects of heat and cold stress on mammalian gene expression. *J. Appl. Physiol.* 92:1725-1742.
- St-Pierre N. R., B. Cobanov, and G. Schnitkey. 2003. Economic losses from heat stress by US livestock industries. *J. Dairy Sci.* 86 (E. Suppl.): E52-E77.
- West J. W. 2003 Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- Wickramasinghe, S., A. Cánovas, G. Rincón, and J. F. Medrano. 2014. RNA-sequencing: A tool to explore new frontiers in animal genetics. *Livest. Sci.* 166:206-216.