

**CARACTERIZACIÓN REPRODUCTIVA DEL GANADO HETEROCIGOTO DOBLE
MÚSCULO EN LA RAZA SENEPOL**

por

Iván Suero Pérez

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
en
INDUSTRIA PECUARIA
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO DE MAYAGÜEZ
2016

Aprobado por:

Melvin Pagán Morales, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Héctor L. Sánchez Rodríguez, PhD.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Américo Casas Guernica, M.S.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

José R. Latorre, Ph.D.
Director de Departamento

Fecha

Matías J. Cafaro, Ph.D.
Representante Escuela Graduada

Fecha

ABSTRACT

The *Senepol* cattle has a mutation in the myostatin gen (MSTN) which codifies for a high degree of skeletal muscle hypertrophy. However, thermoregulation, production, and reproduction related mechanisms need to be determined for these animals under heat stress. Thus, the effect of environment temperature (AT) was determined on the vaginal (VT), rectal (RT) and scrotal (ST) temperatures, and seminal characteristics of twenty cows (n= 20) and bulls (n=20) phenotypically and molecularly classified with intermediate muscle hypertrophy (HM) or normally muscled (HN). In the cows, the VT were collected every 5 minutes for a week, and calving interval (IBC), maternal calving ease (MCE), pregnancy rate (PR), calving rate (CR), maternal weight at calving (MWC), maternal weaning weight (MWW), and calf weight at birth (CWB), and at weaning (CWW) were evaluated. Bulls were collected during the months of August to September (hot season) and from January to February (cool season), initially to activate the spermatogenesis process and 60 days later. The air temperature (AT) was collected in both studies. The VT, RT, ST, productive, reproductive and seminal qualities data were analyzed in SAS by the GLIMMIX procedure. Also, molecular breeding values (MBV) for different traits of interest were evaluated in a population of 86 bulls and 53 cows according to a high (A), low (B), and intermediate (I) scale. Differences in VT between HM and HN cows were not observed ($P>0.05$), for hair type (TP; $P>0.05$). However, during the hot season, the HM bulls presented RT values 0.15°C higher than the HN ones ($P=0.0232$).

Also during the hot season, the HM bulls presented higher sperm cells quantities with proximal cytoplasmic droplet (PCD) (26.62 ± 2.81 vs 13.87 ± 2.65 ; $P= 0.0517$) and less sperm cells number (CE/ml; 460.04×10^6 vs 887.32×10^6 sperm cells/mL; $P=0.0098$) than the HN group. The HN bulls presented greater scrotal circumference (SC) than the HM (36.12 ± 0.31 vs 37.72 ± 0.29 cm; $P=0.005$). In the group of cows productive and reproductive traits, differences were not observed ($P>0.05$). However, the MBV for the traits considered were only influenced by sex ($P<0.05$). According to the obtained results, under the thermally stressful environmental conditions of Puerto Rico, the HM heterozygous *Senepol* cows performance is not negatively affected. However, the evaluated bulls with this phenotype showed inferior performance than their normally muscled counterparts.

RESUMEN

El ganado *Senepol* posee una mutación en el gen de miostatina (MSTN) la cual codifica para un marcado grado de hipertrofia en la musculatura esquelética. Sin embargo, en la actualidad se desconocen los mecanismos de termorregulación, producción y reproducción utilizados por estos animales en presencia de estrés por calor. Por esta razón se evaluaron estas variables en 20 vacas y 20 toros *Senepol* clasificados en las categorías de hipertrofia muscular intermedia (HM) o con musculatura normal (HN), tanto a nivel fenotípico como molecular. Se evaluó el efecto de la temperatura ambiental (TA) sobre las temperaturas vaginal (TV), rectal (TR), escrotal (TE) y característica seminal (CS). En las vacas la TV se midió cada 5 minutos durante una semana previo a la época de apareamiento. Simultáneamente también se evaluó el intervalo entre partos (IP), facilidad al parto (FP), porcentaje de preñez (PP), porcentaje de parto (PPT), peso maternal al parto (PMP), peso maternal al destete (PMD), peso del becerro al nacimiento (PBN) y peso del becerro al destete (PBD). Mientras que en los toros se procedió a vaciar el epidídimo durante los meses agosto/septiembre (época caliente) y enero/febrero (época fresca) para activar el proceso de espermatogénesis y colectarlos 60 días después. La temperatura del aire (TA) fue colectada en ambos estudios. Los datos de TV, TR, TE, productivos, reproductivos y características seminales fueron analizados mediante el procedimiento GLIMMIX de SAS. También, los valores de cría molecular (MBV) fueron evaluados según una distribución de Alta (A), Baja (B) e Intermedia (I) para los distintos rasgos de interés en una población de 86 machos y 53 hembras. No se observaron

diferencias en TV entre vacas HM vs HN ($P>0.05$), así como tampoco por tipo de pelo ($P>0.05$). Mientras que para TR, toros HM presentaron valores de TR 0.15°C mayores que sus contemporáneos HN ($P=0.0232$) durante la EA caliente. Durante la EA caliente, toros HM presentaron mayor cantidad de espermatozoides con gota citoplasmática proximal (GCP) que los del grupo HN (26.62 ± 2.81 vs 13.87 ± 2.65 ; $P=0.0517$) y una menor cantidad de células espermáticas (CE/ml; 460.04×10^6 vs 887.32×10^6 espermatozoides / mL; $P=0.0098$). Los toretes HN presentaron mayor circunferencia escrotal (CE) que sus homólogos HM (36.12 ± 0.31 vs 37.72 ± 0.29 cm; $P=0.005$). No se observaron diferencias ($P>0.05$) en las distintas variables productivas y reproductivas evaluadas en las vacas. Sin embargo, en los MBV para las distintas variables estudiadas solo estuvieron influenciados por el sexo del animal. Por lo tanto, el ganado de la raza *Senepol* heterocigoto para HM evaluado en el presente estudio no presenta una incidencia de desventajas considerablemente mayor al ganado de musculatura normal.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis familiares, Eduarda Pérez, Evelin Suero, José Manuel Hernández, Altagracia Paredes, Claudio Martínez, Enrique Duval y la Familia García, por haber depositado su confianza en mí, por ser el ejemplo que me impulsa a seguir adelante y poder cumplir este sueño tan anhelado. A todos mis hermanos y amigos que de una forma u otra me han servido de motivación.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme la vida. Gracias por poner en mi camino tantas bellas personas durante todo este proceso. Gracias al Dr. Pagán, por permitirme ser su estudiante graduado, por su apoyo, su tiempo y por ayudarme a alcanzar esta meta. Gracias al Dr. Sánchez por haberme acogido como su estudiante graduado adoptivo durante este proceso y al profesor Américo por ser parte de mi comité graduado, por sus consejos, su tiempo y ayuda. Gracias al Agro. Añeses y personal de trabajo de Finca Montaña por ser parte esencial en esta investigación y por brindarme su ayuda incondicional en todo momento. Gracias a mis padres y mis hermanos, que a pesar de la distancia siempre conté con su apoyo. Gracias a mi esposa Altagracia Paredes y mis hijos Javier Emilio, Carlee Stephany, Tatiana y Lexander por ser motivo de inspiración en todo este proceso. Gracias a todo el personal de INPE, por la gran disposición y ayuda brindada. Gracias al gobierno de la República Dominicana y al CONIAF, bajo la dirección del Dr. Juan Chávez por la confianza depositada en mí y el sustento económico durante todo este proceso. Gracias a todos mis amigos y demás profesores por su gran ayuda, en especial a Edith Sanoguet, Juan Carlos García, Lorena Simbaña, Silfranís Ovalles, Bernardo Mateo, Manuel Ozuna, Ivonne Venturas, Juan Cruz, Francisca Vidal, Yency Castillo, Julio Vargas, Sonia Vargas, Marianela Conce, Ramón Américo, Belkis Fragozo, Diana Alvares, Joan Patiño, Edgar Soto, Yomar Vélez, Lisa Dillon, María Alexandra, Milton Núñez, Isamaris, Hilda Calderón, Carla Linera, Omaris Rivera, Eduardo Matos, Amelia Mateo, mil gracias.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA	7
3.1. GANADO PELO CORTO	13
4. OBJETIVOS	16
5. METODOLOGÍA	17
5.1. COLECCIÓN DE TEMPERATURA VAGINAL	18
5.2. PROTOCOLO PARA LA INSERCIÓN DE LOS TERMOMETROS INTRAVAGINALES Y LA TOMA DE LA TEMPERATURA RECTAL	20
5.3. RECOLECCIÓN DE LOS DATOS AMBIENTALES	22
5.4. VARIABLES FISIOLÓGICAS Y COLECCIÓN DE SEMEN	23
5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1. TEMPERATURA VAGINAL	26
6.2. TEMPERATURA RECTAL	28
6.3. CALIDAD SEMINAL ENTRE TOROS HM VS HN	31
6.4. CORRELACION ENTRE LAS DISTINTAS VARIABLES SEMINALES EVALUADAS	35
6.5. DIFERENCIAS PRODUCTIVAS Y REPRODUCTIVAS ENTRE ANIMALES HM Y HN	44
7. CONCLUSIONES	47
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
9. APENDICES	56

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. PATRONES DE PRODUCCIÓN, IMPORTACIÓN Y CONSUMO TOTAL DE CARNE DE RES EN PUERTO RICO (1950-2011).....	5
FIGURA 2. PATRONES DE CONSUMO DE CARNE RES E INCREMENTO POBLACIONAL. TOMADA OFICINA DE ESTADÍSTICAS AGRÍCOLAS DE PUERTO RICO, AÑO 2011.	6
FIGURA 3. REGISTRADOR DE TEMPERATURA VAGINAL (TIDBIT V2 TEMPERATURA DATA LOGGER; ONSET COMPUTER CORPORATION, BOURNE, MA) UNIDO A UN DISPOSITIVO INTERNO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE PROGESTERONA (CIDR). TOMADO DE GARCÍA <i>ET AL.</i> , 2016.	19
FIGURA 4. APLICADOR DE CIDR (EAZI-BREED CIDR CATTLE INSERT, PFIZER IRELAND, DUBLIN, IRELAND) UTILIZADO PARA INSERTAR LOS TERMÓMETROS VAGINALES. TOMADO DE GARCÍA <i>ET AL.</i> , 2016.....	19
FIGURA 5. IMPLANTACIÓN DEL REGISTRADOR DE TEMPERATURA VAGINAL (TIDBIT V2 TEMPERATURE DATA LOGGER; ONSET COMPUTER CORPORATION, BOURNE, MA) UNIDO A UN DISPOSITIVO INTERNO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE PROGESTERONA (CIDR).....	21
FIGURA 6. FOTOGRAFÍA DEL ESCROTO EN UN TORO <i>SENEPOL</i> TOMADA CON UNA CÁMARA DE RADIACIÓN INFRARROJA (FLIR E40 CON MSX 160 x 120 RESOLUTION /60HZ CON FLIR TOOLS).....	22
FIGURA 7. PROCESO DE COLECCIÓN DE SEMEN EN FINCA MONTAÑA UTILIZANDO UN ELECTRO EYACULADOR PULSATOR IV.	24
FIGURA 8. TEMPERATURA VAGINAL EN VACAS CON DOBLE MUSCULATURA O MUSCULATURA NORMAL.	27
FIGURA 9. TEMPERATURA VAGINAL SEGÚN TIPO DE PELO.	27

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. TEMPERATURA RECTAL Y ESCROTAL SEGÚN EL GENOTIPO, LA ÉPOCA Y LA HORA DEL DÍA.....	30
TABLA 2. CALIDAD SEMINAL SEGÚN GENOTIPO Y ÉPOCA.....	34
TABLA 3. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SEMINALES PARA LOS TOROS HM DURANTE LA ÉPOCA CALIENTE.	40
TABLA 4. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SEMINALES PARA LOS TOROS HM DURANTE LA ÉPOCA FRESCA.	41
TABLA 5. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SEMINALES PARA LOS TOROS HN DURANTE LA ÉPOCA CALIENTE.	42
TABLA 6. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES SEMINALES PARA LOS TOROS HN DURANTE LA ÉPOCA FRESCA	43
TABLA 7. VARIABLES REPRODUCTIVAS ANALIZADAS EN LOS DIFERENTES GENOTIPOS DE MUSCULATURA Y DE PELO.	46
TABLA 8. VALORES DE CRÍA MOLECULARES (MBV) SEGÚN MUSCULATURA (HM VERSUS HN) Y SEXO DEL ANIMAL.	46

LISTA DE APENDICES

APÉNDICE 1. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA GANANCIA EN PESO DIARIA SEGÚN SEXO.	56
APÉNDICE 2. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA GANANCIA EN PESO DIARIA EN HEMBRAS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	57
APÉNDICE 3. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA GANANCIA EN PESO DIARIA EN MACHOS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	58
APÉNDICE 4. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA PORCIENTO DE PREÑEZ SEGÚN SEXO.	59
APÉNDICE 5. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA PORCIENTO DE PREÑEZ EN HEMBRAS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	60
APÉNDICE 6. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA PORCIENTO DE PREÑEZ EN MACHOS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y MUSCULATURA NORMAL (HN).	61
APÉNDICE 7. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA LONGEVIDAD SEGÚN SEXO.	62
APÉNDICE 8. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA LONGEVIDAD EN HEMBRAS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	63
APÉNDICE 9. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA LONGEVIDAD EN MACHOS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	64
APÉNDICE 10. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA FACILIDAD AL PARTO SEGÚN SEXO.	65

APÉNDICE 11. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA FACILIDAD AL PARTO EN HEMBRAS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	66
APÉNDICE 12. DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES SEGÚN CATEGORÍA DE VALOR DE CRÍA MOLECULAR (MBV; ALTO, INTERMEDIO, BAJO) PARA FACILIDAD AL PARTO EN MACHOS CON HIPERTROFIA MUSCULAR (HM) Y DE MUSCULATURA NORMAL (HN).	67

LISTA DE ABREVIATURAS

MSTN=Miostatina

TGF β = Factor de crecimiento beta

FST= Folistatina

LAP= Polipéptido asociado latente

HM= Hipertrofia muscular

HN= Musculatura normal

GA= Genotipo animal

TP= Tipo de pelo

BB= Homocigoto pelo corto

AB= Heterocigoto pelo corto

TV= Temperatura Vaginal

TR= Temperatura rectal

TA=Temperatura ambiental

TEDMX= Temperatura escrotal distal máxima

TEDMI= Temperatura escrotal distal mínima

TEDP= Temperatura escrotal distal promedio

TEMMX= Temperatura escrotal medial máxima

TEMMI= Temperatura escrotal medial mínima

TEMP= Temperatura escrotal medial promedio

TEPMX= Temperatura escrotal proximal máxima

TEPMI= Temperatura escrotal proximal promedio

TEPP= Temperatura escrotal proximal promedio

CE= Circunferencia escrotal

CS=Características seminales
VS= Volumen
CE/ml= Concentración espermática por mililitro
ME= Motilidad espermática
MP= Motilidad progresiva
NE= Normalidad espermática
CD= Cola doblada
CEE= Cola en espiral
GCP= Gota citoplasmática proximal
GCD= Gota citoplasmática distal
DMR= Reflejo distal de la pieza media
MBV= Valor de cría molecular
EA= Época del año
HD= Hora del día
ANOVA= Análisis de varianza
CASA=Computer assisted sperm analysis
A=Alta
B=Baja
I=Intermedia
GDM=Ganancia diaria
LM=Longevidad molecular
PPM=Porcentaje de preñez molecular
FPM=Facilidad al parto molecular
PP=Porcentaje de preñez
PPT=Porcentaje de parto

IP=Intervalo parto

FP=Facilidad al parto

PBN=Peso becerro al nacimiento

PBD=Peso becerro al destete

CBP=Cantidad de becerros producidos

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, el consumo de proteína de origen animal ha aumentado considerablemente debido al crecimiento de la población mundial y de su poder adquisitivo (FAO, 2014). Datos oficiales de la Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2014) describen que el consumo de carnes per cápita a nivel global asciende a 42.9 Kg/año. Dado a la demanda emergente de carne vacuna, científicos y productores alrededor del mundo han venido haciendo selección genética en sus animales. En el ganado de carne dicho proceso está dirigido principalmente al aumento de la musculatura animal (Ménissier *et al.*, 1982). Esta presión en la selección ha impulsado el surgimiento de mutaciones genéticas en algunos animales, como en el caso del gen que codifica para la producción de miostatina (**MSTN**). Los animales que poseen esta mutación presentan una mayor musculatura esquelética.

La MSTN es una proteína que está encargada de regular negativamente la formación de músculo esquelético animal (Kambadur *et al.*, 1997; McPherson *et al.*, 1997). Cuando los animales carecen de la presencia del gen codificante para MSTN, se rompe el patrón biológico de la síntesis muscular desde la etapa fetal, dando como resultados animales con hipertrofia muscular (HM). Dicho rasgo se ha identificado en distintas razas de carne, como es el caso del ganado *Belgian Blue*, *Charolais*, *Piedmontes*, *Senepol* y otras líneas genéticas, observándose polimorfismos de inserción, sustitución y eliminación de varias pares de bases nitrogenadas en el gen de MSTN (Grobet *et*

al.,1997). En el ganado Senepol de Puerto Rico se ha identificado una eliminación de once pares de bases nitrogenadas, permitiendo la formación de un codón de terminación prematura y una traducción de 287/375 aminoácidos para la proteína MSTN (Datos no publicados). Se ha observado que animales que poseen la mutación presentan mejor conversión alimenticia, menor tamaño visceral, mejor relación músculo/hueso y mayor producción de carne magra de hasta un 20%(Arthur, *P.F.* 1995 y Grobet *et al.*,1997). Cabe destacar que este fenómeno se encuentra asociado a varios eventos patológicos que pueden comprometer de manera directa el buen desempeño productivo y reproductivo del animal. Dentro de estas patologías podemos mencionar: aumento en la incidencia de partos distócicos, hipoplasia testicular, dificultad respiratoria, locomoción y estrés por calor, entre otras patologías de gran importancia económica (Phocas, 2009 y Fiems, 2012). Estudios preliminares realizados por investigadores de la Universidad de Puerto Rico plantean que vacas de la raza Senepol no arrojaron diferencias significativas en cuanto a variables productivas cuando poseen la versión heterocigota para MSTN en comparación con los de musculatura normal. Estos hallazgos coinciden con estudios previos realizados en otras razas bovinas que poseen el gen asociado con la HM.

2. JUSTIFICACIÓN

En la década de 1950 la producción de carne bovina en nuestra isla ascendía a la suma de 23.2 millones de libras, representando más del 74% del consumo general (Casas *et al.*, 2011); Figura 1. Sin embargo, diez años más tarde nuestra producción comenzó a disminuir, producto de las importaciones masivas proveniente de diferentes países. Estas importaciones colocaron la producción nacional en una línea de decadencia constante, pues ya para el año 1987 solo producíamos el 36% de la carne de res localmente. Este comportamiento negativo se redujo en el año 2000 gracias a una serie de medidas tomadas por el Departamento de Agricultura junto al gobierno central puertorriqueño, las cuales consistían en el abastecimiento de productos locales incluyendo la carne de res en los comedores escolares distribuidos por toda la isla. Sin embargo, dicha medida fue poco efectiva debido a que solo mantuvo la producción constante, sin reflejar ningún crecimiento significativo en los últimos diez años (Casas *et al.*, 2011).

Según datos de la oficina estatal de estadística, el consumo per cápita de carne bovina alcanzó las 45.4 libras para el año 2011, con un consumo global de 156.8 millones de libras anuales donde la producción nacional solo aportó un 10.9 %. Estos datos dejan al descubierto gran necesidad de desarrollar políticas eficientes de comercialización y producción, que vayan en beneficio de la producción de carne bovina local (Casas *et al.*, 2011; Cianzio *et al.*, 2011; Figura 2). Una de las estrategias planteadas por investigadores

de la industria lo es la utilización del ganado Senepol, ya que es un animal cárnico y adaptado a las condiciones ambientales existentes en nuestra Isla.

El ganado Senepol se originó en la Isla de Santa Cruz durante la década del 1950 a partir del cruzamiento del ganado Red Poll (europeo/maternal) y N'Dama oriundo del continente africano. Esta mezcla de razas dio origen a un animal más cárnico, el cual ha sido catalogado en muchas ocasiones como el "*Bos taurus tropical*" dado a que pertenece a esta especie, pero está altamente adaptado al trópico.

La raza *Senepol* fue introducida a Puerto Rico en el año 1983 por el Dr. Danilo Cianzio, junto al Departamento de Ciencia Animal del Recinto Universitario Mayagüez de la Universidad de Puerto Rico, con el objetivo de mejorar la ganadería de carne existente en la isla. En esta primera importación se introdujeron seis animales, que estaban constituidos por cuatro novillas, tres de ellas preñadas, y dos toros. Es desde ese entonces que empieza la introducción del ganado *Senepol* en Puerto Rico, realizando cruces con las distintas razas existentes. Pero la visión del Dr. Cianzio no solo se limitó simplemente a realizar cruces entre razas, ya que también fijó una serie de características en el ganado *Senepol* que lo colocan como una de las mejores razas de carne en la región tropical. Estas características cárnicas conllevaron a la expresión de la mutación resultante en la hipertrofia muscular o doble musculatura.

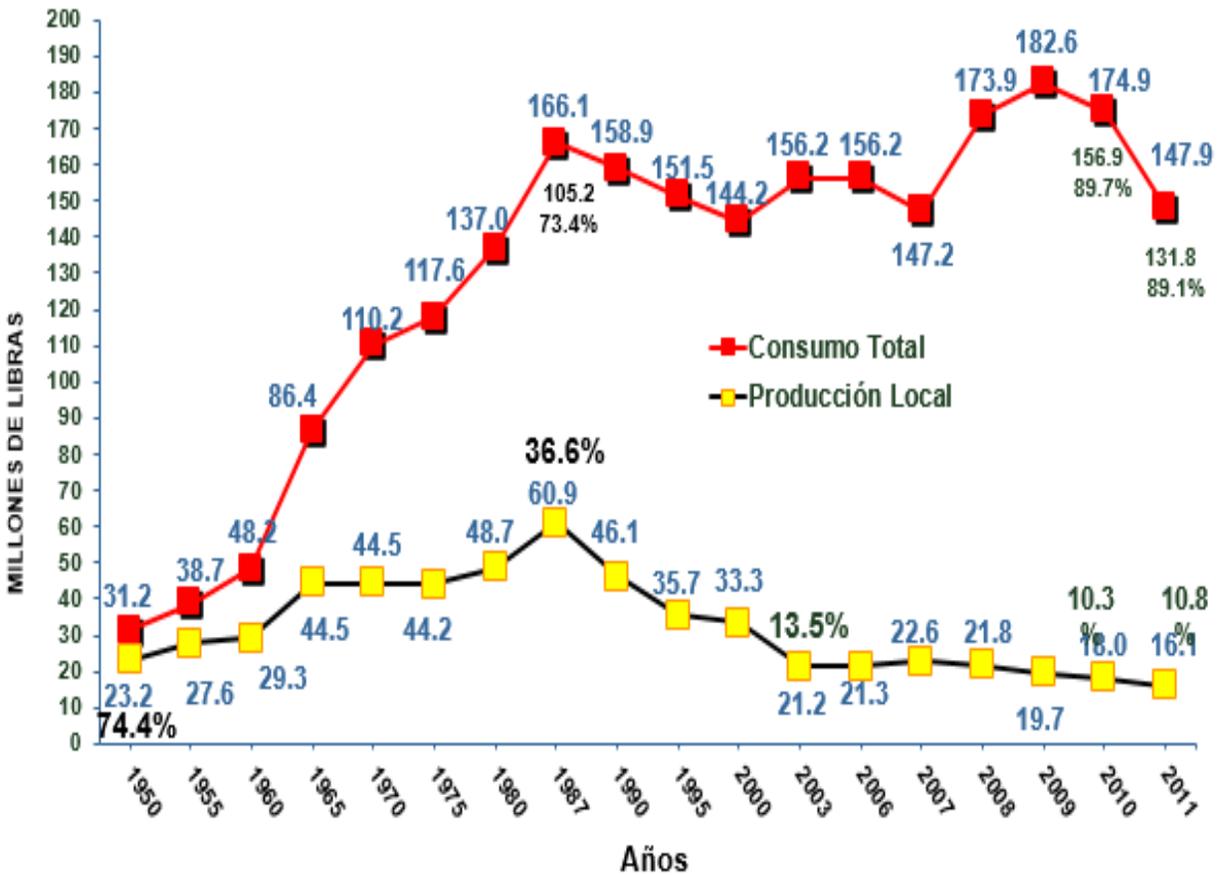


Figura tomada de la oficina de estadísticas agrícolas. Departamento de Agricultura.

Figura 1. Patrones de producción, importación y consumo total de carne de res en Puerto Rico (1950-2011).

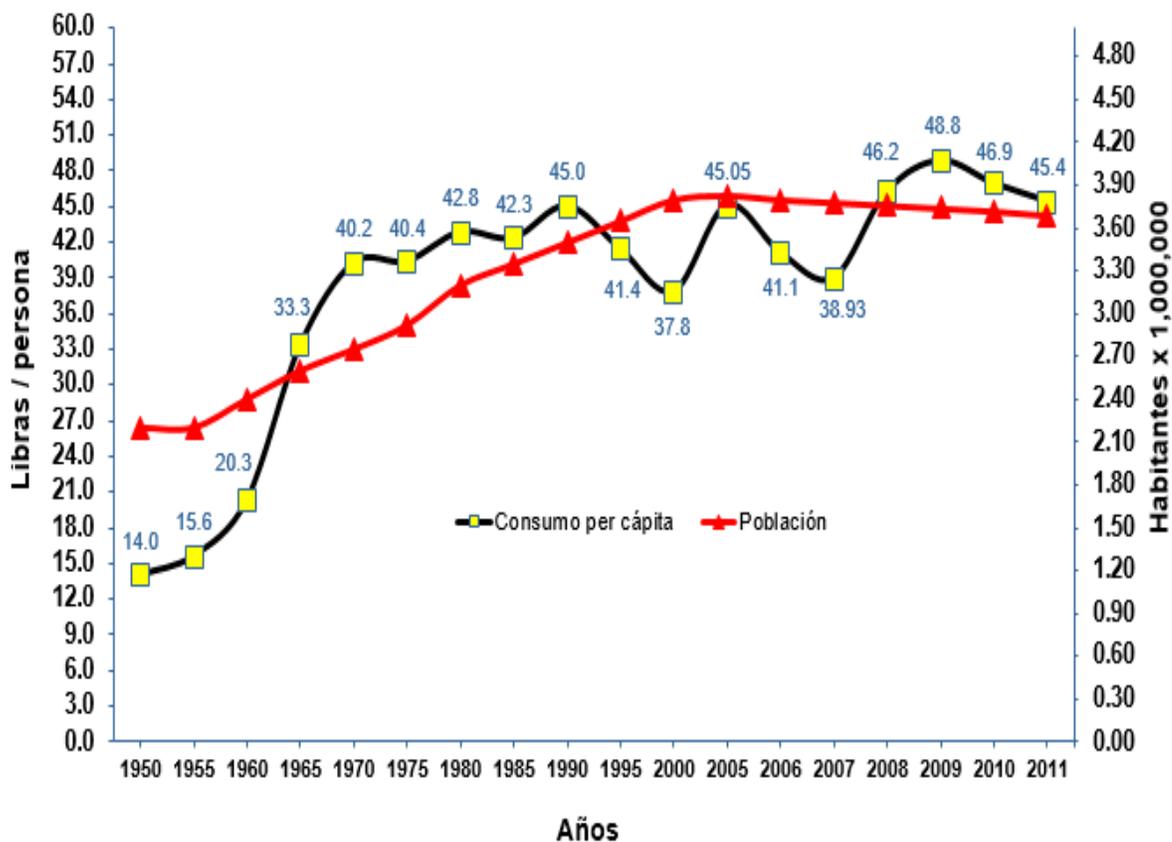


Figura tomada de la oficina de estadísticas agrícolas. Departamento de Agricultura.

Figura 2. Patrones de consumo de carne res e incremento poblacional. Tomada oficina de estadísticas agrícolas de Puerto Rico, año 2011.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

La MSTN es una molécula especializada que se encarga de regular de manera negativa la producción y el crecimiento de las fibras musculares (Kambadur *et al.*,1997). Esta proteína se conoce como el factor de crecimiento - **TGF β (Tranforming growth factor beta)** debido a que está envuelta en el proceso de diferenciación del tejido músculo-esquelético, desde los esbozos embrionarios hasta la adultez del animal (Gerrard *et al.*,1995 y Kambadur *et al.*,1997). Dicha proteína y el gen asociado a la misma fueron identificados por primera vez en el ganado *Azul Belga y Piemontés*, donde se comprobó que animales con ausencia del **TGF- β** presentaban mayor musculatura que los animales normales o con presencia del gen productor de la MSTN (McPherron *et al.*, 1997). Este aumento en la masa corporal resulta de una combinación de hipertrofia e hiperplasia muscular (McPherron *et al.*, 1997).

El gen codificante para la MSTN se localiza en la región central del cromosoma 2 bovino y está dividido en tres exones y dos intrones, donde los tres primeros son los encargados de codificar para MSTN (Grobet *et al.*, 1997 y McPherron *et al.*, 1997). La MSTN se sintetiza principalmente en el tejido músculo- esquelético y las células adiposas de los animales, así como en tejido cardíaco adulto (Sharma *et al.*,1999). Esta se libera en dos formas diferentes luego de un proceso de proteólisis, dando lugar a un propéptido terminal con peso molecular de 26 KD y un segundo péptido maduro de 12.5 KD (Zimmers *et al.*, 2002). En la mayoría de los casos la MSTN puede liberarse directamente

al torrente sanguíneo, unida a su propéptido formando lo que científicamente se le llama (“LAP” péptido latente asociado) (Zamora *et al.*, 2008). Dicha forma representa el 70% de la MSTN sanguínea (Hill *et al.*, 2002). Otra vía de liberación y metabolización de esta proteína es por la unión del péptido maduro con una molécula llamada Folistatina (Fst), permitiendo simultáneamente la formación del polipéptido latente asociado (LAP) (Willoughby *et al.*, 2006; Hill *et al.*, 2002). Dicha glucoproteína es rica en cisteína, la cual se encuentra descrita como elemento inhibitorio de la MSTN y otros miembros de la familia TGF- β , por lo que se necesita la acción de serinoproteasas y otras metaloproteasas que permitan la ruptura del LAP, para poder dar lugar a un propéptido N terminal Fst y MSTN activa (Wolfman *et al.*, 2006).

La MSTN en su forma activa se encuentra en forma de homodimeros unidos a puentes de disulfuro intercatenario, actuando de manera directa con el receptor de membrana Activina IIB (Lee y McPherron, 2001). Estos receptores actúan con genes específicos desencadenando una serie de reacciones intracelulares, dirigidas a inhibir el crecimiento descontrolado de las células del músculo estriado (Szabo *et al.*, 1998). Diversos autores han demostrado que la cantidad de ARNm y MSTN sérica aumenta en personas diagnosticadas con sida (HIV) y con otras enfermedades degenerativas del sistema muscular, así como en la producción de corticoides endógenos luego de un estrés prolongado (Wehling *et al.*, 2000; Lang *et al.*, 2001; Marcell *et al.*, 2001 y Yarasheski *et al.*, 2002). Por dicha razón, varios estudios plantean el uso de bloqueadores de MSTN para tratar enfermedades como la distrofia muscular y otras

enfermedades que comprometen el buen desarrollo del tejido muscular estriado (Schuelke *et al.*, 2004). Aunque otras investigaciones recomiendan que debido a la complejidad de estas enfermedades el uso de inhibidores de la MSTN empeoraría la recuperación de pacientes en algunos casos clínicos de distrofia muscular y otras enfermedades a fines (Lee *et al.*, 2015). Por esto se necesitan nuevas investigaciones para determinar de una manera clara las diferentes rutas de acción de la MSTN, ya que varios estudios plantean que dicha proteína actúa de manera autocrina, mientras que otros sugieren que utiliza una vía endocrina para regular la hipertrofia muscular o doble musculatura (Ríos *et al.*, 2004).

La doble musculatura es un evento biológico atípico, donde animales presentan un crecimiento músculo-esquelético descontrolado. Dicho fenómeno fue reportado por primera vez a finales del 1888 a partir de estudios realizados en ganado vacuno de carne, según lo citado por (Ménissier *et al.*, 1982). Sin embargo, no fue hasta cien años más tarde cuando McPherson y sus colaboradores identificaron por primera vez la proteína encargada de regular el crecimiento muscular, donde ratones nulos para el gen de MSTN presentaron mayor contenido de masa muscular que los grupos control (McPherson *et al.*, 1997). Cuando los animales presentan esta condición hay un aumento en el número y tamaño de las fibras musculares estriadas, mientras que una disminución en las fibras musculares lisas o viscerales (McPherson *et al.*, 1997 y Chelh *et al.*, 2010).

Animales que poseen la mutación para la HM son más compactos que los de musculatura normal (HN), producen mayor cantidad de carne magra y poseen una mejor relación músculo/hueso (Fiems *et al.*, 1995), aunque muchos investigadores han determinado que la hipertrofia muscular puede variar según el tipo de músculo y su ubicación anatómica (Uytterhaegen *et al.*, 1994). Esta variación ronda entre 8 a 51% para los cuartos delanteros y de 9 a 34% en los cuartos traseros, arrojando una disminución en tejido óseo de 2.9 a 9.2 % (Ansay *et al.*, 1979). También se ha determinado que hay una reducción en cuanto al contenido de colágeno en las fibras musculares, por lo que se obtiene una carne más tierna para el consumidor (Uytterhaegen *et al.*, 1994 y Fiems *et al.*, 1995).

El ganado vacuno con doble musculatura presenta una disminución significativa en el diámetro de algunos órganos internos, lo cual puede afectar de manera directa el desempeño del animal a nivel de finca. Estudios realizados en toros *Charolais* con HM presentaron una disminución en el tamaño de los siguientes órganos internos: bazo (30%), corazón (20%), volumen sanguíneo (20%) y entre un 10 a 24 % para pulmón y glándulas suprarrenales, respectivamente (Vissac, *et al.*, 1968 y Hanset *et al.*, 1979). Sin embargo, además de la reducción en el diámetro de los órganos internos, también existe una disminución en el peso y grosor de la piel el cual ronda entre un 20 a 29% y con una marcada reducción en el tamaño de los órganos reproductivos (Vermorel *et al.*, 1994). Esta disminución en órganos tan importantes puede comprometer la reproducción y la supervivencia de los animales homocigotos HM en las explotaciones ganaderas, por lo

que se recomienda mantener los hatos dedicados a reemplazo solo con la versión heterocigota del gen de HM (Vissac *et al.*, 1968 y Short *et al.*, 2002). Esto solo se puede lograr identificando todos los animales que poseen la mutación heterocigota del gen productor de MSTN, para luego cruzarlos con animales negativos (de musculatura normal) y así obtener crías que no sean homocigota para la HM.

Los bovinos HM pueden presentar dificultad para desplazarse, lo que puede deberse al tamaño de la musculatura del animal con respecto a su tejido óseo y de sostén. Estudios realizados en toretes *Charolais* HM presentaron una reducción de 4 y 5% en la longitud del húmero y fémur, mientras que una disminución en la circunferencia femoral de un 7 a 10% (Vissac *et al.*, 1968). También, un estudio realizado en toretes *Angus* reportó una disminución en la elasticidad de las extremidades entre 10 a 18% (Hendricks *et al.*, 1973). Aunque los autores no encontraron diferencias significativas, sí podemos decir que animales con hipertrofia muscular presentan una ligera desventaja en el desplazamiento, cuando los comparamos con otros de HM.

La hipertrofia muscular altera de manera negativa el consumo de materia seca en animales homocigotos HM doble músculo dado a la reducción de los órganos encargados de la digestión y el metabolismo de los alimentos. Un estudio realizado para medir el consumo y la conversión alimenticia, determinó que novillos con HM eran menos eficientes que los de musculatura normal, dando como resultados que animales portadores del gen HM demanden dietas más concentradas (Bjercke *et al.*, 1984). Dicha

investigación arrojó que estos animales requieren de una alimentación con altos niveles de fósforo principalmente en la etapa de crecimiento y finalización. Otras investigaciones sugieren la inclusión de 0.1 a 0.5 ppm de selenio en la dieta para reducir los riesgos de enfermedades carenciales como la del músculo blanco, la cual se encuentra asociada con distrofia muscular (Guyot *et al.*, 2007).

El fenotipo HM puede ejercer un efecto deletéreo sobre la reproducción de los bovinos debido a la reducción excesiva en el tamaño de los órganos encargados de la actividad reproductiva. Estudios describen que vacas Piedemontes homocigotas portadoras del gen HM presentan una reducción en el tamaño de los huesos del cinturón pélvico entre un 6 y 10%, aumentando simultáneamente la muerte neonatal en el canal del parto (Arthur *et al.*, 1988 y Short *et al.*, 2002). Becerros homocigotos HM nacen con pesos superiores que los de HN, incrementando la incidencia de partos distócicos y, simultáneamente, extendiendo los intervalos entre partos (Mao *et al.*, 2008 y Vermunt *et al.*, 2008). Este incremento en días abiertos se encuentra asociado con la formación de adherencias uterinas, luego de la manipulación de los partos y prácticas de cesáreas. No obstante, otros estudios revelan que el incremento en el número de días entre el parto y la concepción puede estar correlacionado con la pobre calidad y cantidad de las células espermáticas producidas por toros HM (Kolkman *et al.*, 2007).

Además, las vacas homocigota HM son más susceptibles a presentar muerte embrionaria, debido a su pobre capacidad de disipación de calor hacia el ambiente

cuando están expuestas a altas temperaturas ambientales (Wolfenson *et al.*, 2000). Cabe destacar que toros con hipertrofia muscular presentan un reducido desarrollo testicular, disminuyendo considerablemente el proceso de espermatogénesis (Hoflack *et al.*, 2006).

3.1. GANADO PELO CORTO

El ganado de climas tropicales y subtropicales se caracteriza por su gran capacidad para resistir condiciones extremas de calor, así como su resistencia a enfermedades y su producción de carne y leche en pasturas deficientes en nutrientes (Olson *et al.*, 2003). Dicho desempeño en estos animales se concentra, en unas series de características fijadas a través de los tiempos de manera natural en su genoma (Huson *et al.*, 2014). Una de estas características es el caso del fenotipo pelón, identificado en algunas razas caribeñas, donde se ha observado que animales de pelo corto poseen mayor eficiencia de producción que los de pelaje normal (Mariasegaram *et al.*, 2007). En este selecto grupo tenemos en primer lugar al ganado *Senepol* originado en la isla de Santa Cruz, al Carora de procedencia venezolana, así como también al ganado *Criollo Limonero* de Venezuela y *Romosinuano* oriundo de las costas colombianas (Bracho *et al.*, 2002). Estudios demuestran que estas razas, pueden producir con mejor eficiencia que las razas europeas, cuando están en climas subtropicales y tropicales (Olson *et al.*, 2003).

El gen del pelaje corto fue descrito por primera vez en el año 2006 a partir de estudios realizados por la Dra. Mariasegaram y sus colaboradores, donde bajo la utilización de microsatélite pudieron ubicar el segmento asociado a la característica de pelo corto del ganado *Senepol*. Dicho locus fue ampliamente identificado y confirmado en el cromosoma 20 bovino gracias al uso de intervalos de cartografía. Otros estudios plantean que existen varios genes interactuando en los animales con el fenotipo pelo corto, uno de estos genes es el de receptor de prolactina, el cual se encuentra ubicado anatómicamente debajo de la piel animal (Littlejohn *et al.*, 2014). La prolactina es una hormona que está asociada con el balance hídrico corporal, así como con la disipación de calor hacia el ambiente durante las épocas de verano (Littlejohn *et al.*, 2014 y Dikman *et al.*, 2014). Dicha proteína posee una estrecha relación con el desarrollo de los folículos pilosos, específicamente para los cambios de pelajes en las distintas estaciones del año (Freeman *et al.*, 2000 y Alamer *et al.*, 2011).

Vacas *Holstein* de pelaje corto poseen menor temperatura vaginal que vacas de pelaje normal, gracias a su gran eficiencia en la producción de sudor corporal, lo cual beneficia el intercambio de calor eficiente hacia el ambiente (Olson *et al.*, 2003). Otras ventajas observadas en vacas pelonas de primer parto es una menor temperatura rectal y frecuencia respiratoria menos acelerada que vacas de pelaje normal, lo que se traduce en un menor gasto de energía metabólica y un aumento en la producción de leche principalmente en las épocas de verano (Dikmen *et al.*, 2008 y Dikmen *et al.*, 2014).

Por todo esto la presente investigación fue dirigida a comparar diferentes características productivas y reproductivas en animales portadores de los genes de HM y de pelo corto, con el fin de caracterizar el ganado *Senepol* HM puertorriqueño. Dentro de las características evaluadas se encuentran: temperaturas vaginal y rectal y la característica seminal.

4. OBJETIVOS

1. Determinar las diferencias existentes en rasgos productivos, reproductivos y temperatura vaginal (TV) en vacas *Senepol* con hipertrofia muscular (HM) versus musculatura normal (HN).
2. Identificar las diferencias entre animales HM versus HN en cuanto a los valores de cría moleculares (MBV) de ganancia diaria de peso, porcentaje de preñez, facilidad al parto y longevidad.
3. Evaluar las diferencias en temperatura rectal (RT) escrotal (TE) y calidad seminal entre toros HM vs HN en dos épocas distintas de colección de datos.

5. METODOLOGÍA

La presente investigación se llevó a cabo en el hato vacuno de carne de la Estación Experimental Finca Montaña del municipio de Aguadilla, dependencia de la Universidad de Puerto Rico. En dicho estudio se utilizaron dos grupos homogéneos de vacas (n=53) y dos de toros (n=86) de la raza *Senepol* en donde se compararon animales con hipertrofia (HM) versus sus contemporáneos sin hipertrofia (HN). Estos animales también fueron evaluados según tipo de pelo en las características homocigoto pelo corto (BB) versus heterocigoto pelo corto (AB).

Las variables de respuestas evaluadas en las hembras abarcaron: temperatura vaginal (TV), intervalo entre partos (IP), facilidad al parto (FP), tipo de parto (TP) porcentaje de preñez (PP), porcentaje de parto (PDP), peso materno al parto (PMP), peso materno al destete (PMD), peso del becerro al nacimiento (PBN), peso del becerro al destete (PBD) y cantidad de becerros producidos (CBP). A su vez, se colectaron 20 ml de sangre de cada animal mediante venopunción coccígea de los cuales 500µl fueron utilizados para llenar una micro tarjeta FTA (*Fast Technology for Analysis*) la cual se envió a la compañía Igenity (Corporación Neogen) para realizar un análisis genómico estimativo [valores de cría molecular (MBV)] para los rasgos de: porcentaje de preñez (PPM), facilidad al parto (FPM), ganancia diaria en peso (GDM) y longevidad (LM). Los MBV fueron distribuidos dentro de tres categorías utilizando el MBV promedio basado en una población de 375 animales y las desviaciones estándar (DS) [Alto (+1 DS), Bajo (-1 DS), Intermedio (0 DS)]. En los grupos de machos se midieron TR (temperatura rectal),

TEDMX (temperatura escrotal distal máxima), TEDMI (temperatura escrotal distal mínima), TEDP (temperatura escrotal distal promedio), TEMMX (temperatura escrotal medial máxima), TEMMI (temperatura escrotal medial mínima), TEMP (temperatura escrotal medial promedio), TEPMX (temperatura escrotal proximal máxima), TEPMI (temperatura escrotal proximal promedio), TEPP (temperatura escrotal proximal promedio), así como las características seminales (CS), incluyendo: volumen (VS), concentración (CE/ml), motilidad espermática (ME), motilidad progresiva (MP) y normalidad espermática (NE).

5.1. COLECCIÓN DE TEMPERATURA VAGINAL

La TV se midió mediante un termómetro a prueba de agua insertando en la vagina (TidbiT v2 Data logger de temperatura; Onset Computer Corporation, Bourne, MA) mediante un CIDR (dispositivo de liberación de fármaco interno controlado; sin progesterona, Eazi-Breed CIDR Cattle Insert, Pfizer Ireland, Dublin, Ireland como se muestra en la figura 3 y 4). Previo a la inserción intravaginal todos los termómetros fueron programados para tomar y almacenar datos de temperatura cada 5 minutos durante 1 semana. Mientras que las medidas reproductivas se evaluaron según la edad y cantidad de partos registrados en cada vaca.

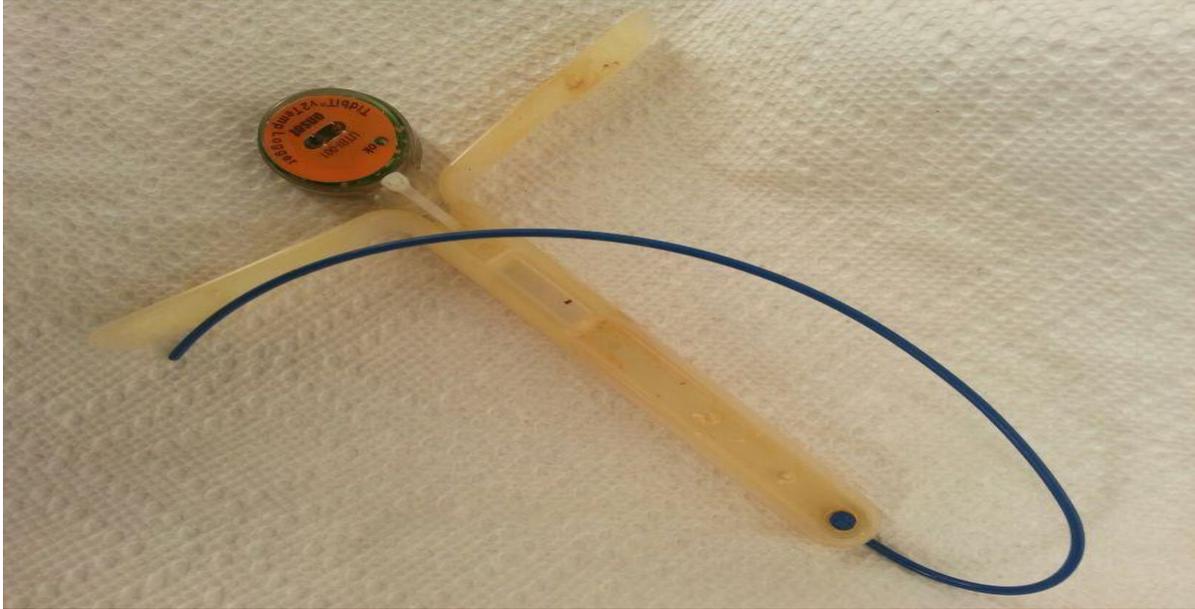


Figura 3. Registrador de temperatura vaginal (TidbiT v2 Temperatura Data Logger; Onset Computer Corporation, Bourne, MA) unido a un dispositivo interno de liberación controlada de progesterona (CIDR). Tomado de García *et al.*, 2016.



Figura 4. Aplicador de CIDR (Eazi-Breed CIDR Cattle Insert, Pfizer Ireland, Dublin, Ireland) utilizado para insertar los termómetros vaginales. Tomado de García *et al.*, 2016.

5.2. PROTOCOLO PARA LA INSERCIÓN DE LOS TERMOMETROS INTRAVAGINALES Y LA TOMA DE LA TEMPERATURA RECTAL

La implantación consistió en la introducción intravaginal de un termómetro unido a un CIDR. Dichos CIDRs fueron autoclaveados y unidos al termómetro mediante un amarre plástico comercial. Una vez unidos, todos los dispositivos (CIDR + termómetro vaginal) se lavaron con agua y jabón quirúrgico (Stone, Stone Mfg & Supply, KC, MO) y se enjuagaron con una solución de clorhexidina (Nolvasan, Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, IA) y luego ligeramente cubiertos con un lubricante obstétrico estéril (KY Jelly, Reckitt Benckishire Grupo, Slough, Berkshire, Reino Unido, como se muestra en la figura 5). Los dispositivos se insertaron por la vía intra-vaginal por medio de un aplicador de CIDR. Previo a la inserción, el exterior de la vulva se lavó con jabón comercial sin olor, se desinfectó con una solución de chlorhexidina y se secó con toallas desechables individuales limpias.

La TR se colectó utilizando un termómetro digital resistente a humedad y material fecal marca (GLA M700 Digital Livestock Thermometer) con una sonda en ángulo de 10.16 cm de largo. Dicho instrumento se desinfectó con una solución clorhexidina (Nolvasan, Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, IA) y se secó con papel higiénico comercial, para ser introducido vía rectal tres veces al día (mañana, medio día y tarde), permaneciendo dos minutos dentro del recto de cada animal hasta obtener un valor estable. Mientras que la TE se evaluó mediante el uso de una cámara de termografía infrarroja marca (FLIR E40 con MSX 160 x 120 RESOLUTION /60Hz con FLIR Tools

como se muestra en la figura 6)., donde se tomaran dos fotos en cada testículo, tres veces al día durante una semana en dos épocas diferentes.



Figura 5. Implantación del registrador de temperatura vaginal (TidbiT v2 Temperature Data Logger; Onset Computer Corporation, Bourne, MA) unido a un dispositivo interno de liberación controlada de progesterona (CIDR).

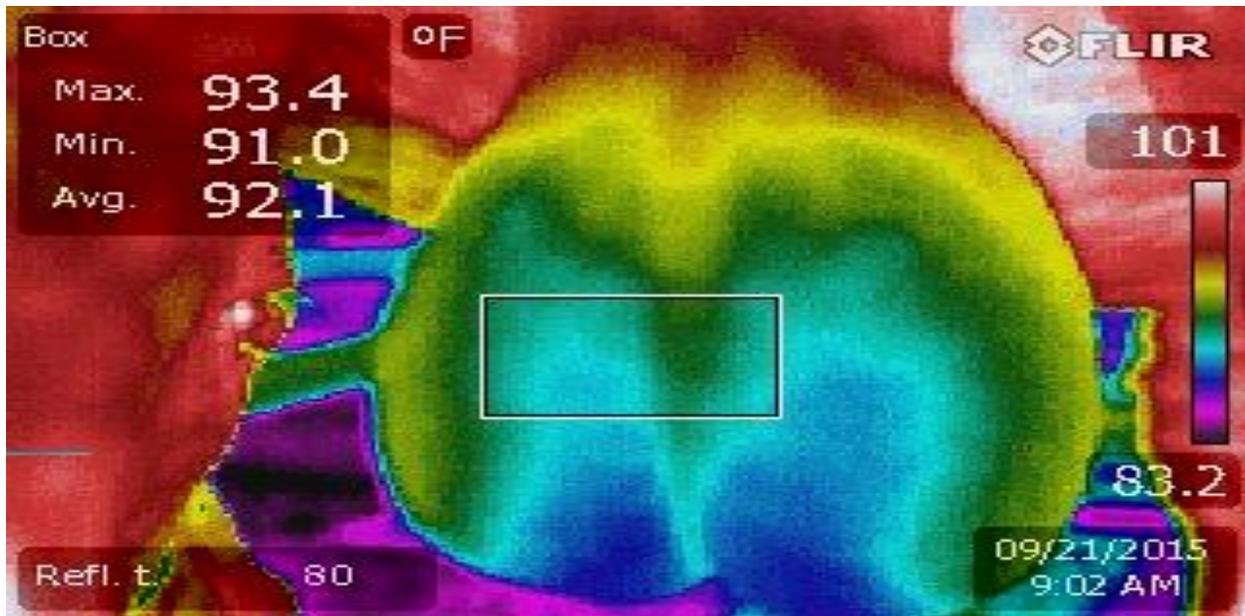


Figura 6. Fotografía del escroto en un toro *Senepol* tomada con una cámara de radiación infrarroja (FLIR E40 con MSX 160 x 120 RESOLUTION /60Hz con FLIR Tools).

5.3. RECOLECCIÓN DE LOS DATOS AMBIENTALES

La temperatura del aire (HOBO Pro v2 temp/RH Data Logger, Onset Computer Corporation, Pocasset, MA) fue medida y almacenada cada 5 minutos, en sincronía con los termómetros vaginales. Dichos dispositivos fueron colocados en lugares representativos de las diferentes áreas (descanso y manga de trabajo) utilizados por los animales.

5.4. VARIABLES FISIOLÓGICAS Y COLECCIÓN DE SEMEN

Los toros se colectaron en dos estaciones del año diferentes, tomando como época caliente los meses de julio y agosto, mientras que para la temporada fresca se tomaron los meses de diciembre y enero. A estos animales HN y HM se les tomó la TR y la TE tres veces al día (AM, MD, PM) durante una semana. Luego de transcurridos 60 días, periodo que toma el proceso formación y maduración de espermatozoides (Chenoweth *et al.*,1997), los dos genotipos fueron colectados utilizando un electroeyaculador marca Pulsator IV (Figura.7), para evaluar posibles anomalías en el contenido seminal y su relación con la temperatura ambiental. Previo a la colección, cada toro fue restringido en un brete tipo americano para higienizar toda el área prepucial, evitando así la posible contaminación de las muestras. También se les midió la circunferencia escrotal para establecer diferencias entre ambos grupos HN versus HM. El semen colectado fue diluido en un medio de transporte (OPTIXcell comercial, IMV Technologies,95% Made in France,) en una proporción de 1:1 para ayudar a preservar las características del mismo hasta llegar a ser analizado en el laboratorio, el cual está localizado a una distancia de 29 KM de la finca. Todas las muestras fueron nuevamente diluidas en un segundo medio de preservación (Easy buffer B, IMV Technologies, France) a una proporción 1:10, 1:20 y 1:30 según la concentración del eyaculado y luego analizadas en un sistema Computer-assisted sperm analysis (CASA).

Cada muestra fue analizada en duplicado, para así conseguir un promedio general por eyaculado de cada toro. Esto se realizó dos veces por semana, después de transcurridos 60 días post toma de temperatura corporal en ambas épocas.



Figura 7. Proceso de colección de semen en finca Montaña utilizando un electro eyaculador Pulsator IV.

5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron organizados en el programa Excel 2016 y analizados por el programa estadístico SAS. Este último bajo el procedimiento GLIMMIX para evaluar las posibles diferencias entre los grupos HM vs HN y la combinación con BB vs AB. La TV, facilidad al parto, tipo de nacimiento, porciento de preñez, porciento de parto, cantidad de partos, peso de la vaca al parto, peso de la vaca al destete, peso de becerro al nacimiento y peso del becerro al destete, fueron incluidos como variables dependientes. Mientras que las diferencias en cuanto a MBV fueron analizadas bajo dos procedimientos, ANOVA y FREQ (χ^2) en SAS. MSTN, TP y HD fueron incluidos como efectos fijos del modelo. El número o identificación del animal fue incluido como efecto aleatorio. Un modelo similar fue utilizado para evaluar los dos grupos de machos, en donde la TR, TEDMX, TEDMI, TEDP TEMMX, TEMMI, TEMP, TEPMX, TEPMI, TEPP, CS y CE estuvieron incluidas con variables de respuesta. Como variables independientes se introdujeron la EA, MSTN, HD y como un efecto aleatorio, la identificación del animal.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. TEMPERATURA VAGINAL

Debido a que GA y TP no interactuaron ($P=0.9559$) para afectar la TV de las vacas, ambas variables se analizaron por separado. No se encontraron diferencias significativas en TV entre animales HM y HN ($P=0.8115$; Figura 8). Contrario a nuestros resultados, Howard y sus colaboradores (2013) reportaron que, bajo condiciones de estrés por calor, bovinos con influencia *Angus*, *Simmental* y *Piedmontese* con cero copias del alelo mutado para MSTN presentan mayor temperatura corporal que animales con una o dos copias mutadas. Es importante notar que el Senepol es una raza altamente adaptada a las condiciones ambientales en el trópico (Cianzio et al.,2002), por lo que ambos genotipos deben ser capaces de lidiar eficientemente con las condiciones ambientales existentes en Puerto Rico. Para la variable TP tampoco se observaron diferencias significativas en TV entre AB y BB ($P= 0.5777$). Esto influenciado a que todos los animales, por lo menos, poseían un alelo mutado para el gen de pelo corto y, por ende, presentaban el fenotipo correspondiente (Figura 9). Esto corrobora lo reportado por Dikmen y sus colegas (2008), donde se demostró que, bajo condiciones de estrés por calor, novillas con influencia Senepol de pelo corto poseen menor TV que sus contemporáneas de pelaje normal. Por otra parte, se observaron diferencias en temperatura ambiental (TA) entre las diferentes horas del día ($P<0.0001$), registrándose los picos más altos en las primeras horas de la tarde y los valores más bajos en las primeras horas de la madrugada.

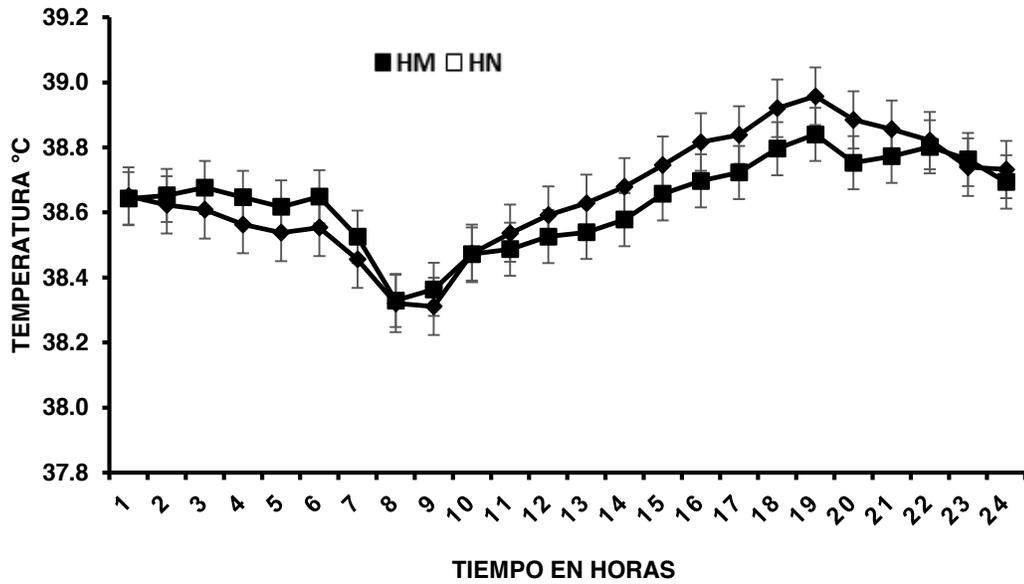


Figura 8. Temperatura vaginal en vacas con doble musculatura o musculatura normal.

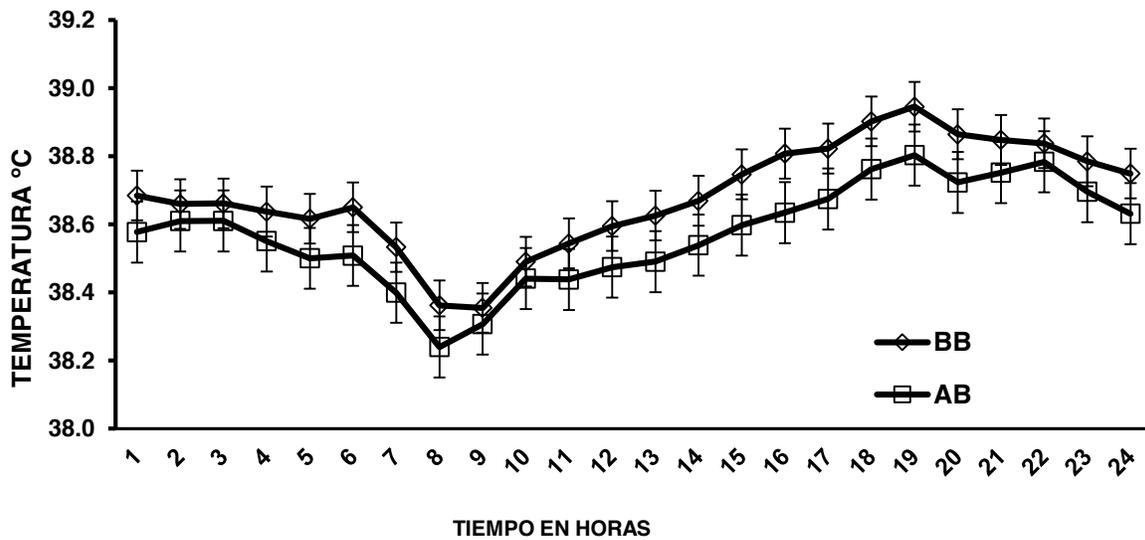


Figura 9. Temperatura vaginal según tipo de pelo.

6.2. TEMPERATURA RECTAL

La tabla 1 muestra los valores para las diferentes temperaturas corporales medidas en la presente investigación para cada GA, época (EA) y hora (HD). En el presente estudio GA, EA y HD no interactuaron para afectar la TR ($P=0.9003$). Tampoco se observaron interacciones entre GA y HD ($P=0.3792$), entre HD y EA ($P=0.3692$) o entre GA y EA ($P=0.0885$). Sin embargo, se observó un efecto simple del GA ($P=0.0233$), con los toros HM presentando valores de TR 0.15°C mayores que los HN. La TR fue también afectada por la EA ($P<0.0001$), donde durante la EA fresca se observaron valores de TR 0.20°C menores que durante la caliente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Howard *et al.* (2013), quienes reportaron en vacas de carne valores de TR 0.28°C mayores durante la época caliente que en la fresca. Dichos autores también encontraron que animales de musculatura normal presentaban TR superiores que aquellos con una y dos copias del alelo mutado.

Para las diferentes temperaturas escrotales medidas en la presente investigación, no se observó interacción GA x EA x HD ($P>0.05$), GA x HD ($P>0.05$) o efecto simple de GA ($P>0.05$; Tabla 1). Sin embargo, sí se encontró interacción entre HD x EA para afectar la TDEMx ($P<0.0001$), TEDMI ($P<0.0001$), TEDP ($P<0.0001$), TEMMX ($P<0.0001$), TEMMI ($P<0.0001$), TEMP ($P<0.0001$), TEMPX ($P<0.0001$), TEPMI ($P<0.0001$) y TEPP ($P<0.0001$). Estas interacciones son el resultado de menores temperaturas escrotales durante la época caliente que durante la fría, las cuales aumentaron a medida que avanzaba el día. Estos resultados parecen ser

contradictorios, pero es importante mencionar que durante la época caliente hubo alta incidencia de lluvia, mientras que durante la época fresca nunca llovió durante la investigación. Otros autores han reportado un efecto refrescante en la temperatura escrotal asociado con la lluvia (Kastelic et al., 1996; Menegassi et al., 2015). Convección es el término que hace referencia a la disipación de calor a favor de un gradiente que ocurre de un cuerpo a un fluido en movimiento que corre sobre el primero (Kadzere *et al.*, 2002). Por lo tanto, el agua proveniente de la lluvia, con una temperatura menor a la corporal, corre sobre la piel de los toros, llevándose calor corporal. Adicionalmente, una vez finaliza la lluvia, el calor corporal de cada animal hace que el agua sobre su piel pase al estado gaseoso, lo que implica disipación de calor adicional mediante el mecanismo de evaporación (Allen *et al.*, 1998; Van Cleve et al., 2011). Como se reflejó en la biología del animal, el efecto de menor temperatura escrotal no se tradujo a una menor temperatura rectal en la presente investigación. La temperatura superficial, como la infrarroja, tiene la principal desventaja de que al estar directamente expuesta al medioambiente todo lo que ocurre alrededor del animal tiene un impacto directo e inmediato sobre la misma (Kastelic et al., 1996; Van Cleve et al., 2011). Por ende, dado la frecuencia con la que se colectaron las medidas en la presente investigación, no fuimos capaces de medir el posible efecto retrasado que esta disipación de calor superficial puede haber tenido sobre la TR.

Tabla 1. Temperatura rectal y escrotal según el genotipo, la época y la hora del día.

	CALIENTE			FRESCA			CALIENTE			FRESCA			G	EA	HD	Valor-P						
	AM	HM	PM	AM	HM	PM	AM	HN	PM	AM	HN	PM				G	EA	HD	G'E	G'H	E'H	G'E'H
		MD			MD			MD			MD											
TR	38.49±0.07	39.17±0.06	39.01±0.05	38.06±0.07	38.67±0.07	38.44±0.05	38.35±0.06	38.88±0.04	38.83±0.04	37.99±0.05	38.53±0.06	38.38±0.05	0.02	<.0001	<.0001	0.08	0.38	0.37	0.89			
TEDMX	32.83±0.13	33.33±0.12	32±0.24	33.44±0.19	34.65±0.13	34.15±0.12	32.15±0.11	33.33±0.11	32.15±0.18	33.29±0.14	34.20±0.11	33.72±0.10	0.44	<.0001	<.0001	0.09	0.83	<.0001	0.40			
TEDMI	32.01±0.14	32.35±0.12	30.94±0.24	31.57±0.17	32.86±0.14	32.50±0.13	31.95±0.10	32.49±0.10	31.19±0.18	31.50±0.14	32.76±0.12	32.24±0.11	0.91	<.0001	<.0001	0.27	0.92	<.0001	0.42			
TEDP	32.44±0.13	32.93±0.12	31.50±0.25	32.64±0.18	33.94±0.13	33.36±0.13	32.39±0.12	32.95±0.11	31.71±0.18	32.42±0.14	33.55±0.11	33.02±0.10	0.57	<.0001	<.0001	0.07	0.81	<.0001	0.63			
TEMMX	34.67±0.12	34.89±0.08	33.59±0.24	34.44±0.18	35.25±0.11	34.73±0.12	34.55±0.09	34.70±0.10	33.64±0.14	34.58±0.14	34.93±0.11	34.60±0.10	0.60	<.0001	<.0001	0.90	0.31	<.0001	0.46			
TEMMI	33.22±0.13	33.75±0.12	31.9±0.20	33.2±0.26	34.05±0.11	33.51±0.17	33.16±0.10	33.57±0.10	32.17±0.16	33.11±0.15	33.76±0.11	33.48±0.10	0.8297	<.0001	<.0001	0.8096	0.3113	<.0001	0.2682			
TEMP	33.94±0.12	34.30±0.08	32.75±0.21	33.63±0.19	34.63±0.11	34.14±0.12	33.85±0.09	34.20±0.09	32.86±0.15	33.86±0.14	34.33±0.11	34.00±0.09	0.83	<.0001	<.0001	0.81	0.31	<.0001	0.27			
TEPMX	36.13±0.13	36.22±0.11	35.15±0.18	35.67±0.13	36.36±0.10	36.00±0.09	36.01±0.13	36.00±0.10	35.02±0.14	35.60±0.11	36.27±0.12	35.93±0.10	0.59	0.0002	<.0001	0.90	0.88	<.0001	0.80			
TEPMI	34.52±0.12	34.43±0.14	33.21±0.21	34.10±0.15	34.81±0.11	34.40±0.15	34.36±0.13	34.40±0.11	33.23±0.16	34.04±0.14	34.78±0.13	34.51±0.10	0.85	<.0001	<.0001	0.97	0.60	<.0001	0.99			
TEPP	35.47±0.18	35.41±0.10	34.22±0.18	34.88±0.14	35.57±0.10	35.26±0.10	35.21±0.11	35.37±0.12	34.19±0.15	34.81±0.12	35.56±0.11	35.26±0.10	0.69	0.0002	<.0001	0.97	0.59	<.0001	0.90			

Noía. TR (Temperatura rectal); TEDMX (Temperatura escrotal medial máxima); TEDMI (Temperatura escrotal distal mínima); TEDP (Temperatura escrotal distal promedio); TEMMX (Temperatura escrotal medial máxima); TEMMI (Temperatura escrotal medial mínima); TEMP (Temperatura escrotal medial promedio); TEPMX (Temperatura escrotal proximal máxima); TEPMI (Temperatura escrotal proximal promedio) y TEPP (Temperatura escrotal proximal promedio).

La época caliente fue llevada a cabo durante los meses de Agosto y Septiembre; mientras que la fresca ocurrió durante Diciembre y Enero.

AM (horas aproximadas), MD (horas aproximadas) y PM (horas aproximadas).

6.3. CALIDAD SEMINAL ENTRE TOROS HM VS HN

La tabla 2 muestra los valores para las diferentes variables seminales medidas en la presente investigación para GA y época. Por lo que, GA no interactuó con EA para afectar VS ($P=0.1577$). Resultados similares fueron observados cuando el GA fue evaluado por separado ($P=0.0762$). Esto contradice lo observado por Hoflack y sus colegas (2006), donde toros azul belga produjeron menor VS que toros Holstein. Cole y Cupps (1984) determinaron que toros de razas cárnicas producían menor volumen seminal que las razas lecheras. Por lo tanto, la falta de diferencia encontrada en cuanto VS pudo estar asociada al tipo animal. Debido a que todos los toros evaluados eran todos de una misma raza, en este caso *Senepol*. En cuanto a época, esta tuvo un efecto sobre el VS ($P=0.0002$), presentándose mayor VS durante la temporada fresca. Meyerhoeffer *et al.* (1985) reportaron que toros sometidos a estrés calóricos durante 6 semanas previo a una colección disminuyen significativamente el VS. Mientras que resultados similares fueron reportados Carmona *et al.* (2013), donde toros evaluados en la selva tropical de Colombia producían mayor cantidad de VS en los meses con menor ITH.

Toros HN presentaron mayores circunferencias escrotal (CE) que sus semejantes HM (37.72 ± 0.29 vs. 36.12 ± 0.31 cm; $P=0.0005$). Estos resultados corroboran lo encontrado por (Hoflack *et al.*, 2006) donde toros azul belga presentaron menor CE que sus contemporáneos Holstein Friesian. Mientras que

para concentración espermática el GA interactuó con EA para aumentar la CE/ml, observándose mayores valores de células espermáticas en los toros HN, específicamente durante la temporada caliente del estudio ($P=0.0039$). Según Meyerhoeffer *et al.*, 1985 la CE/ml la cantidad de disminuyen cuando toros Angus, son sometidos a estrés por calor semanas previas a la colección. Por lo que, dicho resultados contradicen lo encontrado en nuestro experimento. Por lo tanto, podemos inferir que, dado que el ganado Senepol tiene su origen en clima tropical, posee características adaptativas para estimular la CE/ml en condiciones adversas de calor.

Para motilidad espermática (ME) GA interactuó con EA para afectar el porcentaje de espermatozoides en movimiento ($P= 0.0428$). Por lo que, durante la temporada fresca se observó un 11% de ME superior a la época caliente. Mientras que para motilidad progresiva (MP) el GA no interactuó con EA. Observándose porcentaje MP superiores, durante la temporada fresca ($P<0.0001$). Sin embargo, Hotfack *et al.*, (2007) determinó que toros HM azul belga presentan patrones de ME y MP inferiores, cuando son comparados con toros de la raza Holstein. Meyerhoeffer y sus compañeros (1985), encontraron que la ME disminuye hasta alcanzar valores mínimos a las dos semanas, para recuperar sus valores normales aproximadamente ocho semanas después de un episodio agudo de estrés por calor.

Por lo que se refiere a normalidad espermática (NE), MSTN interactuó con EA para afectar a la misma ($P=0.0195$). Presentándose valores de NE de hasta 19.12% superiores durante la época fresca. Hoflack (2006) y sus colaboradores, reportaron que toretes azul belga presentaban mayor porcentaje de células espermáticas anormales que toretes Holstein. Nich *et al.* (2006) encontraron que toros de la raza *Nelore* y *Simental*, presentaban mayor número de células anormales durante la época caliente. Para el caso de las anormalidades específicas, GA no interactuó con EA para aumentar la aparición de células espermáticas con cola doblada (CD) ($P=0.8190$). Resultados similares fueron encontrados cuando las variables fueron estudiadas de forma separada. Entretanto, GA y EA no interactuaron para aumentar el porcentaje de espermatozoides con cola en espiral (CE) ($P=0.7868$). Pero se identificó un efecto EA sobre el número espermatozoides con CE específicamente durante la temporada caliente ($P=0.0003$), respaldando lo reportado por Koivisto *et al.* (2009).

Para espermatozoides con anomalía en la pieza media (DMR) no interactuó con EA para afectar a la misma ($P= 0.1007$). Resultados similares fueron encontrados cuando la EA y GA fueron evaluadas de manera individual. Contradiendo lo encontrado por Hoflack *et al.* (2006), donde se identificó que toros HM poseen más anormalidades de pieza media y cola que toros lecheros Holstein.

Tabla 2. Calidad seminal según genotipo y época.

VARIABLES	GENOTIPOS						
	HM	HM	HN	HN	Valor-P		
	Caliente	Fresca	Caliente	Fresca	MSTN	EA	MSTN*EA
Vol. Semen, mL	7.4±0.82a	10.7±0.82b	6.5±0.78b	8.05±0.82b	0.0762	0.0002	0.1577
Circunferencia escrotal, cm	36.12±0.31b	36.12±0.31b	37.72±0.29a	37.72±0.29a	0.0005	1.000	1.000
Concentración espermática, espermatozoides / mL (x10 ⁶)	460.04±75.7b	321.20±75.7b	887.32±71.3a	295.92±75.7b	0.0098	<.0001	<.0001
Motilidad, %	49.16±6.22b	70.21±6.22a	65.36±5.86ab	63.8±6.20ab	0.4723	0.0791	0.0428
Progresivos, %	21.27±4.38b	49.26±4.38a	21.47±4.13b	45.6±4.37a	0.7159	<.0001	0.6134
Normalidad, %	59.61±3.95b	84.3±93.95a	70.50±3.72b	84.06±3.85a	0.2919	<.0001	0.0195
Cola doblada, %	10.52±1.39a	8.44±1.39a	10.84±1.31a	9.3±1.38a	0.7024	0.1266	0.819
Cola en espiral, %	5.02±0.84a	1.76±0.84b	5.44±0.80a	2.6± 0.84b	0.4788	0.0003	0.7868
DMR %	0.39± 0.17a	0.36±0.17a	0.41±0.17a	0.84±0.18a	0.2304	0.1624	0.1007
Gota citoplasmática distal, %	3.81±0.93a	5.90±0.93a	3.97±0.88a	5.56±0.93a	0.9334	0.0199	0.7472
Gota citoplasmática proximal, %	26.62±2.81a	2.51±2.81c	13.87±2.65b	1.39±2.77c	0.0517	<.0001	0.0021

Nota. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas.

6.4. CORRELACION ENTRE LAS DISTINTAS VARIABLES SEMINALES EVALUADAS

Las tablas 3, 4, 5 y 6 muestran los coeficientes de correlación observados entre las diferentes variables seminales evaluadas en el estudio para cada EA y GA. La CE resultó estar positivamente correlacionada ($P=0.0403$) con la concentración solamente en el grupo HN durante la EA caliente. También, para HM durante la EA caliente se observó una asociación negativa entre la CE y la GCP ($P=0.0333$). De forma similar, para el grupo HN durante la EA caliente se observaron correlaciones negativas de la CE con la DMR ($P=0.0386$) y con la GCD ($P=0.0002$). Además, para el grupo HN durante la EA fría, la CE estuvo negativamente asociada con la GCP ($P<0.0001$). Fields *et al.* (1979) demostraron que la calidad espermática puede ser afectada por la EA de manera directa en algunas razas vacunas. De hecho, Nichi *et al.* (2006) reportaron que la EA caliente aumenta la cantidad de metabolitos seminales y los defectos espermáticos, esto tanto en las razas taurinas como en las cebuínas. Estudios realizados en el año 2006 por Hoflak y sus colaboradores plantean que la anomalía espermática estuvo negativamente correlacionada con la CE en toros HM, esto debido a que dichos animales presentaron un pobre desarrollo testicular y un alto grado de defectos espermáticos en comparación con animales similares HN. Mientras que Palasz *et al.* (1994) demostraron que la CE posee una relación positiva con las características morfológicas del espermatozoide que contribuyen a aumentar la calidad del semen.

Con respecto al VS, dicha variable estuvo positivamente correlacionada con concentración espermática ($P=0.0399$), así como también, con un mayor número de espermatozoides con CD ($P=0.0005$), específicamente en el grupo HN durante la EA caliente. Por otra parte, para el grupo HN en la EA fresca, el VS estuvo estrechamente correlacionado de manera positiva con la ME ($P=0.0448$), la MP ($P=0.0454$) y la NE ($P=0.0094$). Sin embargo, se observaron coeficientes de correlación negativos cuando el VS fue asociado con CD ($P=0.0129$), CEE ($P=0.0149$) y DMR ($P=0.0139$). En el caso de CE, toros HN arrojaron valores de correlación positiva con la ME ($P=0.0043$), MP ($P=0.002$) y NE ($P=0.0541$) durante la EA fresca del estudio. Sin embargo, resultados negativos fueron observados cuando se buscó la relación de la CE con CD ($P=0.0397$) y CEE ($P=0.0554$). Mathevon *et al.* (1998) determinaron que la CS en toros Holstein puede estar influenciada por factores genéticos, ambientales y de manejo.

También se observó una correlación positiva de la ME con la MP ($P=0.0002$) y con la NE ($P=0.0002$) durante la EA caliente en el grupo HM. Resultados similares fueron observados, pero de forma negativa, cuando ME fue relacionada con las variables DMR ($P=0.013$), GCD ($P=0.0006$) y GCP ($P=0.0009$). Mientras que los toros HN presentaron un patrón de correlación similar cuando se evaluó la relación de la ME con la MP ($P=0.0056$), la NE ($P=0.0017$), la CD ($P=0.0042$), la DMR ($P=0.0155$), la GCD ($P=0.059$) y la GCP ($P=0.0075$). Por esto se realizó una Transformación z de Fisher para determinar si estos coeficientes de correlación eran diferentes entre genotipos. De esta se

desprende que las correlaciones obtenidas entre la ME y la GCP fueron diferentes entre genotipos, con los toros HM mostrando mayores valores que los toros HN ($P=0.0166$). Sin embargo, para las correlaciones entre ME y MP ($P=0.0642$) y entre ME y NE ($P=0.0996$) no se observaron diferencias entre genotipos. Estudios realizados por Kealey y sus colegas (2006) demostraron que la genética animal puede tener un impacto sobre las CS. También, dicho estudio plantea que la vitalidad y la ME, pueden ser afectadas negativamente por los fluidos producidos durante el proceso del eyaculado. Por esto, dado a que en nuestra investigación se utilizó el método del electroeyaculado, existe la posibilidad de tener algún efecto sobre la calidad seminal.

Con respecto a la MP durante la EA caliente, los toros HM presentaron valores de correlación con la NE ($P=0.0038$), con el DMR ($P=0.0339$), con la GCD ($P=0.0055$) y con la GCP ($P=0.0347$). Sin embargo, en los toros HN no se identificó relación entre MP y las variables anteriormente mencionadas ($P>0.05$). Para la EA fresca se observó que la MP presentaba correlaciones con las variables NE ($P=0.0026$), CD ($P=0.0002$), CEE ($P<0.0001$) y con el DMR ($P=0.0104$). Mientras que resultados similares fueron observados en el grupo HN, cuando se investigó la relación de la MP con NE ($P<0.0001$), CD ($P=0.0004$), CEE ($P<0.0001$) y con el DMR ($P<0.0001$).

En el caso de la NE, los toros HM presentaron correlación con DMR ($P<0.0001$), GCD ($P=0.0287$) y GCP ($P<0.0001$) durante la EA caliente. Resultados similares fueron encontrados en toros HN cuando se evaluó la relación de la NE con las variables anteriormente descritas ($P<0.05$), con la

excepción de las variables CD y CEE, las cuales sí presentaron coeficientes significativos de correlación. Estos mismos patrones de correlación fueron observados durante la EA fresca para ambos grupos de toros. Dado que estos patrones de correlación fueron similares, se procedió a realizar una Transformación z de Fisher para comparar los mismos, encontrando que los toros HM presentaron mayores coeficientes de correlación entre la NE y la GCP ($P=0.0096$) que sus homólogos HN. Hoflack *et al.* (2007) reportaron que existe una correlación negativa entre la cantidad de tejido conectivo presente en testículos de toros HM Azul Belga y la presencia de anomalías primarias del contenido seminal. Esto es sumamente importante ya que los animales HM presentan menor contenido de colágeno (Fierms *et al.*, 2012), lo cual podría traducirse a mayor cantidad de anomalías seminales.

Los animales HM durante la EA caliente presentaron una relación positiva entre CD y CEE ($P= 0.0009$). En los toros HN se encontró una estrecha relación entre la CD y la CEE ($P=0.0053$), el DMR ($P=0.0027$) y la GCD ($P=0.0207$). También, durante la EA fresca los toretes HM mostraron coeficientes de correlación similares entre CD y las distintas variables estudiadas. Para la variable CEE se observó una correlación positiva con el DMR dentro de las distintas épocas estudiadas y en ambos grupos de toros ($P<0.05$). En el caso de la variable DMR, se observó una relación con GCP ($P=0.0005$), esto para el grupo HM en la EA caliente. En el grupo HN el DMR presentó una relación con la GCD ($P<0.0001$) y la GCP ($P=0.0041$). Sin embargo, durante la EA fresca el DMR correlacionó con GCP ($P=0.0495$), solamente en los toretes HN. Para los

toros HN durante la EA caliente se presentaron valores de correlación positivos entre la GCD y la GCP ($P=0.0015$). No obstante, toros HM no presentaron una relación entre la GCD y la GCP ($P=0.0968$). Bif et al. (1996) y Kealey *et al.* (2006) reportaron que la cantidad de GCP y otras anomalías del espermatozoide están relacionadas a factores genéticos que comprometen el desarrollo de la CE. Mientras que Lunstra y sus colegas (1982) registraron que la cantidad de GCP está positivamente asociada con la edad del animal. Koivisto *et al.* (2009) identificaron que tanto la raza animal como la EA del año pueden influenciar de manera directa diversas características morfológicas de los espermatozoides bovinos.

Tabla 3. Correlación entre las variables seminales para los toros HM durante la época caliente.

HM- ÉPOCA CALIENTE										
	VS	CE/ml	ME	MP	NE	CD	CEE	DMR	GCD	GCP
CE	0.43	0.33	0.42	0.33	0.36	0.28	0.15	-0.32	-0.25	-0.53
	0.09	0.21	0.10	0.20	0.17	0.29	0.57	0.23	0.34	0.033
VS		0.52	-0.07	-0.20	-0.29	0.77	0.39	0.26	0.15	0.092
		0.04	0.77	0.45	0.28	0.05	0.13	0.32	0.57	0.73
CE/ml			0.43	0.02	0.31	0.41	0.25	-0.29	-0.10	-0.44
			0.09	0.92	0.25	0.11	0.33	0.27	0.71	0.08
ME				0.79	0.80	-	-0.22	-0.60	-0.76	-0.75
				0.02	0.02	0.29	0.41	0.013	0.006	0.009
MP					0.68	-	-0.47	-0.53	-0.66	-0.53
					0.038	0.48	0.06	0.06	0.033	0.005
NE						-	-0.42	-0.85	-0.55	-0.93
						0.48	0.10	<.0001	0.02	<.0001
CD							0.74	0.37	0.41	0.16
							0.09	0.15	0.11	0.55
CEE								0.50	0.17	0.11
								0.04	0.52	0.68
DMR									0.34	0.77
									0.19	0.005
GCD										0.43
										0.09

Nota. Los valores presentados son los coeficientes de correlación de Pearson sobre sus respectivos niveles de significancia para cada par de variables seminales evaluadas.

CE = Circunferencia Escrotal, VS= Volumen Seminal, CE/ml= Cantidad de Espermatozoides por Mililitro, ME=Motilidad Espermática, MP= Motilidad Progresiva, NE=Normalidad Espermática, CD=Cola Doblada, CEE=Cola en Espiral, DMR=Reflejo Distal de la Pieza Media, CD=Gota Citoplasmática Distal, GCP=Gota Citoplasmática Proximal.

Tabla 4. Correlación entre las variables seminales para los toros HM durante la época fresca.

HM ÉPOCA FRESCA										
	VS	CE/ml	ME	MP	NE	CD	CEE	DMR	GCD	GCP
CE	0.42	0.20	0.19	0.16	0.21	-0.21	-0.22	0.09	-0.25	-0.12
	0.11	0.46	0.47	0.54	0.43	0.44	0.40	0.73	0.36	0.66
VS		0.28	0.34	0.26	0.03	0.02	-0.37	0.12	0.16	-0.11
		0.30	0.20	0.34	0.91	0.93	0.16	0.65	0.56	0.68
CE/ml			0.26	0.13	-0.13	0.24	-0.23	-0.11	0.46	-0.18
			0.34	0.64	0.62	0.37	0.38	0.70	0.07	0.50
ME				0.94	0.70	-0.65	-0.88	-0.69	-0.42	-0.33
				<.0001	0.002	0.006	<.0001	0.01	0.055	0.21
MP					0.70	-0.80	-0.83	-0.62	-0.49	-0.16
					0.002	0.002	<.0001	0.01	0.055	0.54
NE						-0.76	-0.65	-0.47	-0.87	-0.67
						0.006	0.006	0.06	<.0001	0.004
CD							0.60	0.59	0.75	0.06
							0.013	0.017	0.008	0.83
CEE								0.66	0.38	0.35
								0.005	0.15	0.19
DMR									0.33	0.08
									0.21	0.77
GCD										0.42
										0.11

Nota. Los valores presentados son los coeficientes de correlación de Pearson sobre sus respectivos niveles de significancia para cada par de variables seminales evaluadas.

CE = Circunferencia Escrotal, VS= Volumen Seminal, CE/ml= Cantidad de Espermatozoides por Mililitro, ME=Motilidad Espermática, MP= Motilidad Progresiva, NE=Normalidad Espermática, CD=Cola Doblada, CEE=Cola en Espiral, DMR= Reflejo Distal de la Pieza Media, CD=Gota Citoplasmática Distal, GCP=Gota Citoplasmática Proximal.

Tabla 5. Correlación entre las variables seminales para los toros HN durante la época caliente.

		HN ÉPOCA CALIENTE								
	VS	CE/ml	ME	MP	NE	CD	CEE	DMR	GCD	GCP
CE	0.37	0.49	0.08	0.21	0.35	-0.09	-0.03	-0.49	-0.76	-0.30
	0.13	0.04	0.76	0.39	0.16	0.73	0.91	0.04	0.02	0.23
VS		0.27	0.25	0.02	0.21	0.08	-0.35	-0.26	-0.25	-0.10
		0.28	0.32	0.92	0.4	0.75	0.15	0.3	0.32	0.69
CE/ml			0.05	0.31	0.13	0.14	0.09	-0.19	-0.37	-0.19
			0.85	0.21	0.62	0.59	0.72	0.45	0.13	0.45
ME				0.62	0.69	-0.64	-0.34	-0.56	-0.45	-0.61
				0.01	0.01	0.04	0.17	0.02	0.06	0.01
MP					0.34	-0.36	-0.33	-0.44	-0.13	-0.16
					0.17	0.14	0.18	0.07	0.62	0.54
NE						-0.78	-0.72	-0.85	-0.80	-0.82
						0.01	0.08	<.0001	<.0001	<.0001
CD							0.63	0.66	0.54	0.39
							0.01	0.005	0.002	0.11
CEE								0.55	0.32	0.37
								0.01	0.20	0.13
DMR									0.88	0.64
									<.0001	0.004
GCD										0.69
										0.001

Nota. Los valores presentados son los coeficientes de correlación de Pearson sobre sus respectivos niveles de significancia para cada par de variables seminales evaluadas.

CE = Circunferencia Escrotal, VS= Volumen Seminal, CE/ml= Cantidad de Espermatozoides por Mililitro, ME=Motilidad Espermática, MP= Motilidad Progresiva, NE=Normalidad Espermática, CD=Cola Doblada, CEE=Cola en Espiral, DMR= Reflejo Distal de la Pieza Media, CD=Gota Citoplasmática Distal, GCP=Gota Citoplasmática Proximal.

Tabla 6. Correlación entre las variables seminales para los toros HN durante la época fresca

HN ÉPOCA FRESCA										
	VS	CE/ml	ME	MP	NE	CD	CEE	DMR	GCD	GCP
CE	0.32	0.25	0.24	0.30	0.37	-0.18	-0.22	-0.35	-0.24	-0.85
	0.22	0.35	0.38	0.26	0.15	0.51	0.41	0.18	0.37	<.0001
VS		0.34	0.50	0.51	0.63	-0.61	-0.60	-0.60	-0.11	-0.28
		0.20	0.05	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.68	0.30
CE/ml			0.67	0.71	0.49	-0.52	-0.49	-0.37	-0.13	-0.21
			0.04	0.02	0.05	0.04	0.06	0.16	0.63	0.44
ME				0.98	0.78	-0.73	-0.83	-0.86	-0.15	-0.36
				<.0001	0.04	0.01	<.0001	<.0001	0.59	0.17
MP					0.83	-0.78	-0.84	-0.85	-0.21	-0.40
					<.0001	0.04	<.0001	<.0001	0.42	0.12
NE						-0.95	-0.84	-0.81	-0.53	-0.41
						<.0001	<.0001	0.001	0.03	0.12
CD							0.81	0.71	0.48	0.16
							0.02	0.002	0.06	0.57
CEE								0.80	0.10	0.21
								0.002	0.71	0.43
DMR									0.11	0.50
									0.69	0.04
GCD										0.32
										0.23

Nota. Los valores presentados son los coeficientes de correlación de Pearson sobre sus respectivos niveles de significancia para cada par de variables seminales evaluadas.

CE = Circunferencia Escrotal, VS= Volumen Seminal, CE/ml= Cantidad de Espermatozoides por Mililitro, ME=Motilidad Espermática, MP= Motilidad Progresiva, NE=Normalidad Espermática, CD=Cola Doblada, CEE=Cola en Espiral, DMR= Reflejo Distal de la Pieza Media, CD=Gota Citoplasmática Distal, GCP=Gota Citoplasmática Proximal.

6.5. DIFERENCIAS PRODUCTIVAS Y REPRODUCTIVAS ENTRE ANIMALES HM Y HN

La tabla 7 y 8 muestran los valores para las diferentes variables productivas, reproductivas y MBV que fueron medidos en la presente investigación para cada genotipo. Para la CP, GA x TP no interactuaron para afectar dicha variable ($P=0.2559$). Tampoco se observaron efectos simples de GA ($P=0.2550$) o TP ($P=0.9139$). Resultados similares fueron observados en las variables IP, TDP, PBN, PBD y CBP ($P>0.05$). Similarmente, para los MBV no se observaron diferencias en GDM, LM, PPM y FPM ($P>0.05$) entre los diferentes genotipos analizados. Sin embargo, se identificaron diferencias estadísticas según el sexo del animal para las distintas variables moleculares anteriormente descritas ($P<0.05$). En donde el grupo de hembras presentaron valores de MBV superiores para GDM, PPM y FPM ($P<0.05$), mientras los machos tuvieron LM más altos ($P<0.05$). Crossa *et al.*, 2010 y Goddard, y Hayes (2009) describieron que los valores moleculares pueden ser una herramienta de selección muy importante, ya que nos permiten fijar características de gran valor económico en nuestras explotaciones ganaderas. Sin embargo, dichos autores plantean que el éxito de esta tecnología depende de las condiciones ambientales y buen manejo zootécnico, debido a que existe una interacción entre estos. Boerner *et al.* (2015) determinaron que para rasgos reproductivos la precisión de los MBV andaba entre 0.11 a 0.53 y para los rasgos de crecimiento eran de 0.29 a 0.45. concluyendo que los MBV de la compañía Igenity se podían utilizar como única herramienta de selección genética de no haber información adicional. Fiems *et al.* (2001) y Mao *et al.* (2008) identificaron que las crías nacidas de vacas HM,

poseen mayor peso corporal que las de HN. También, estos animales HM poseen un canal de parto de un tamaño de un 6 a 10% menor que sus contemporáneos HN (Visac *et al.*, 1971), aumentando considerablemente la aparición de partos distócicos y las prácticas de cesáreas (Arthur *et al.*, 1988; Kolkman *et al.*, 2007).

En el caso de PP GA x TP interactuaron para aumentar dicha variable (P=0.0345), presentándose valores mayores en las vacas HN con genotipo BB que en los demás grupos. Para % de vacas paridas no se observó efecto de GA (P=0.6820), TP (P=0.2764) o interacción GA x TP (P=0.0562). De hecho, múltiples autores han reportado que animales HM poseen menor PP, PPT, así como un mayor número de días abiertos, IP más prolongados y mayor incidencia de abortos embrionarios (Patterson *et al.*, 1981; Hanzen *et al.*, 1994; McCartney *et al.*, 2004; Fiems *et al.*, 2015).

Con respecto al PBN no se observaron diferencias por GA (P=0.1123) y TP (P=0.2499), así como tampoco una interacción entre GA x TP (P=0.9703). Resultados similares fueron observados cuando se evaluó el PBD (P>0.05), PMP (P>0.05) y PMD (P>0.05). Sin embargo, varias investigaciones realizadas en otras razas HM plantean que becerros HM poseen un mayor PBN que los HN (Ashmore *et al.* 1974; Mao *et al.*, 2008).

Tabla 7. Variables reproductivas analizadas en los diferentes genotipos de musculatura y de pelo.

VARIABLES	GENOTIPOS				Valor-P		
	HM AB	HM BB	HN AB	HN BB	MSTN	TP	MSTN*TP
% Preñez	96±0.05a	92±0.03ab	84±0.04b	96±0.03a	0.2058	0.2686	0.0345
% Partos	100±0.04	90±0.02	95±0.03	97±0.02	0.682	0.2764	0.0562
Cant. Partos	2.44±0.48	2.91±0.33	3.30±0.40	2.91±0.26	0.255	0.9139	0.2559
Int. Partos, d	365±13.12	371±19.86	392±15.50	366±10.60	0.4815	0.2976	0.4938
Tipo Parto	1.35±0.13	1.19±0.09	1.16±0.11	1.06±0.07	0.1421	0.224	0.7496
Peso VP, Lb	1190±40	1260±29	1183±34	1237±22	0.6501	0.0556	0.8167
Peso VD, Lb	1419±85.63	1536±60.36	1541±69.63	1627±47.88	0.1136	0.1338	0.8213
Peso BN, Lb	91.36±2.51	89±1.72	88.14±2.07	85.94±1.38	0.1123	0.2499	0.9703
Peso BD, Lb	558.66±20.15	552.76±13.53	559.68±15.60	557.37±10.46	0.8562	0.7882	0.9086

Tabla 8. Valores de cría moleculares (MBV) según musculatura (HM versus HN) y sexo del animal.

MBV	HM		HN		Valor-P		
	Hembra	Macho	Hembra	Macho	MSTN	Sexo	MSTN*Sexo
Ganancia Diaria, Lb	0.44±0.1	0.40±0.1	0.43±0.1	0.40±0.1	0.7218	0.003	0.7752
% Preñez	9.98±0.39	7.52±0.38	9.63±0.34	7.46±0.25	0.5637	<0.0001	0.677
% Longevidad	8.07±0.47	9.83±0.45	7.42±0.4	10.07±0.3	0.6093	<0.0001	0.2748
% Facilidad Parto	7.18±0.31	6.07±0.3	8.04±0.27	6.05±0.2	0.1273	<0.0001	0.114

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de la presente investigación, las vacas heterocigotas HM muestran una fisiología, así como un desempeño productivo y reproductivo similar al del ganado de musculatura normal. Esto sugiere que, al menos para las variables evaluadas en la presente investigación, es posible sacar ventaja de un posiblemente mayor rendimiento cárnico en hembras heterocigotas HM sin comprometer el desempeño de estos animales. Sin embargo, los toros heterocigotos HM presentaron mayor TR y menor CE que sus contemporáneos HN. Dichos cambios fisiológicos y morfológicos pueden afectar de manera directa algunas de las CS de importancia, impactando negativamente el desempeño reproductivo de estos animales y limitando su potencial en escenarios productivos. Futuras investigaciones deben ir dirigidas a profundizar en el desempeño de estos animales.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alamer, M. (2011). The role of prolactin in thermoregulation and water balance during heat stress in domestic ruminants. *Asian Journal of Animal Veterinary Advanced*, 6, 1153-1169.
- Ansary, M., & Hanset, R. (1979). Anatomical, physiological and biochemical differences between conventional and double-muscled cattle in the Belgian Blue and White breed. *Livestock Production Science*, 6(1), 5-13.
- Arthur, P. F., Makarechian, M., & Price, M. A. (1988). Incidence of dystocia and perinatal calf mortality resulting from reciprocal crossing of double-muscled and normal cattle. *The Canadian Veterinary Journal*, 29(2), 163.
- Arthur, P. F. (1995). Double muscling in cattle: a review. *Crop and Pasture Science*, 46(8), 1493-1515.
- Ashmore, C. R., Parker, W., Stokes, H., & Doerr, L. (1974). Comparative aspects of muscle fiber types in fetuses of the normal and "double-muscled" cattle. *Growth*, 38(4), 501.
- BIF. 1996. Guidelines for Uniform Beef Improvement Programs. 7th ed. C. Bailey, ed. Beef Improv. Fed., Colby, KS.
- Bjercke, R. J., Goll, D. E., Robson, R. M., & Dutson, T. R. (1984). Relative roles of polysomes and cytoplasmic enzymes in regulating bovine skeletal muscle protein synthesis. *Journal of Animal Science*, 59(3), 684-696.
- Boerner, V., Johnston, D., Wu, X. L., & Bauck, S. (2015). Accuracy of Igenity genomically estimated breeding values for predicting Australian Angus BREEDPLAN traits. *Journal of Animal Science*, 93(2), 513-521.
- Bracho, I., G. Contreras, M. Pirela y S. Zambrano, 2002. La Raza Criollo Limonero: Una realidad para la Ganadería de Doble Propósito. En: Avances en la Ganadería Doble Propósito C. González-Stagnaro, E. Soto Belloso, L. Ramírez Iglesia (eds). Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo-Venezuela. Pág. I: 9-25.
- Carmona, V. E. R., Bravo, N. M. O., Hernández, A. F. V., & Chaves, J. A. O. (2013). Estrés calórico y su relación con variables reproductivas en machos bovinos en la Amazonia Colombiana. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 14(4), 1-12.
- Casas, A., Cianzio, D., Rivera, A., Pagán, M. y Añeses, L. (2011). Evaluación de parámetros de eficiencia biológica y económica en una operación de engorde a corral basada en el uso de ensilaje de sorgo forrajero en el suroeste de Puerto Rico. Oficina de publicaciones de la EEA # MS-11-26.

- Chacon, J., Perez, E., Müller, E., Söderquist, L., & Rodriguez-Martinez, H. (1999). Breeding soundness evaluation of extensively managed bulls in Costa Rica. *Theriogenology*, 52(2), 221-231.
- Chelh, I., Picard, B., Hocquette, J.F., & Cassar-Malek, I. (2010). Myostatin inactivation induces a similar muscle molecular signature in double-muscled cattle as in mice. *Animal*, 5, 278–286.
- Chenoweth, P. (1997). Clinical reproductive anatomy and physiology of the bull. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Saunders, 217-229.
- Cianzio, D. Simposio Senepol, Santa Cruz, USVI 8-10 de noviembre de 2002 Historia breve del ganado Senepol en Puerto Rico: Un informe en colaboración.
- Cianzio, D., Rodríguez, C., Casas, A., Pagán, M. y Añeses, L. (2012). Efecto de inseminación artificial sencilla o doble en los porcentajes de preñez y parición de bovinos de la raza Senepol. *Journal of Agriculture University of Puerto Rico*. 96 (3-4), 245-250.
- Cole, H. H. (1984). Reproducción de los animales domésticos, editado por HH Cole, PT Cupps, *Reproduction in domestic animals*.
- Contreras, G., Chirinos, Z., Zambrano, S., Molero, E., & Paéz, A. (2011). Caracterización morfológica e índices zoométricos de vacas Criollo Limonero de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 28(1).
- Crossa, J., de los Campos, G., Pérez, P., Gianola, D., Burgueño, J., Araus., & J. L., Arief, V. (2010). Prediction of genetic values of quantitative traits in plant breeding using pedigree and molecular markers. *Genetics*, 186(2), 713-724.
- Dikmen, S., Alava, E., Pontes, E., Fear, J. M., Dikmen, B. Y., Olson, T. A., & Hansen, P. J. (2008). Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. *Journal of Dairy Science*, 91(9), 3395-3402.
- Dikmen, S., Khan, F. A., Huson, H. J., Sonstegard, T. S., Moss, J. I., Dahl, G. E., & Hansen, P. J. (2014). The SLICK hair locus derived from Senepol cattle confers thermotolerance to intensively managed lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5508-5520.
- FAO 2014 Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura.
- Fields, M. J., Burns, W. C., & Warnick, A. C. (1979). Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. *Journal of Animal Science*, 48(6), 1299-1304.
- Fiems, L. O., De Brabander, D. L. (2009). Optimum growth rate of Belgian Blue double-muscled replacement heifers. *South African Journal of Animal Science*, 39(5), 6-10.

- Fiems, L. O. (2012). Double muscling in cattle: Genes, husbandry, carcasses and meat. *Animals*, 2(3), 472-506.
- Fiems, L. O., De Boever, J. L., Ampe, B., Vanacker, J. M., De Campeneere, S., & Sonck, B. (2015). Effect of energy restriction and dietary protein level during the re-alimentation period on feed efficiency in double-muscling Belgian Blue cows. *Livestock Science*, 174, 46-52.
- Fiems, L. O., De Campeneere, S., Van Caelenbergh, W., & Boucqué, C. V. (2001). Relationship between dam and calf characteristics with regard to dystocia in Belgian Blue double-muscling cows. *Animal Science*, 72, 389-394.
- Fiems, L.O.; Van Hoof, J.; Uytterhaegen, L.; Boucqué, C.V.; Demeyer, D.I. Comparative quality of meat from double-muscling and normal beef cattle. In *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*; Ouali, A., Demeyer, D.I., Smulders, F.J.M., Eds.; Ecceamst: Utrecht, The Netherlands, 1995; pp. 381–393.
- Freeman, M. E., Kanyicska, B., Lerant, A., & Nagy, G. (2000). Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiological reviews*, 80(4), 1523-1631.
- Gerrard, D. E., Grant, A. L., Anderson, D. B., Lemenager, R. P., Judge, M. D. (1995). In-vivo analysis of serum-borne growth factors in developing co-twinning fetuses. *Journal of Animal Science*, 73(6), 1689-1693.
- Goddard, M. E., Hayes, B. J. (2009). Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 10(6), 381-391.
- Grobet, L., Martin, L. R., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J., Schoeberlein A., Dunner S., Ménissier F., Massabanda J, Fries R, Hanset R, & Georges M. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nature genetics*, 17(1), 71-74.
- Guo, K. J., L, F. H., Lin, L. U., Davide, B., Carla, L., & Ivo, Z. (2010). Productive performance of double-muscling Piemontese culled cows in finishing period. *Agricultural Sciences in China*, 9(5), 721-728.
- Guyot, H., Spring, P., Andrieu, S., & Rollin, F. (2007). Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livestock Science*, 111(3), 259-263.
- Hanzen, C., Laurent, Y., & Ward, W. R. (1994). Comparison of reproductive performance in Belgian dairy and beef cattle. *Theriogenology*, 41(5), 1099-1114.

- Hendricks, H. B., Aberle, E. D., Jones, D. J., & Martin, T. G. (1973). Muscle fiber type, rigor development and bone strength in double muscled cattle. *Journal of Animal Science*, 37(6), 1305-1311.
- Hill, J. J., Davies, M. V., Pearson, A. A., Wang, J. H., Hewick, R. M., Wolfman, N. M., & Qiu, Y. (2002). The myostatin propeptide and the follistatin-related gene are inhibitory binding proteins of myostatin in normal serum. *Journal of Biological Chemistry*, 277(43), 40735-40741.
- Hoflack, G., Opsomer, G., Rijsselaere, T., Van Soom, A., Maes, D., De Kruif, A., & Duchateau, L. (2007). Comparison of Computer-assisted Sperm Motility Analysis Parameters in Semen from Belgian Blue and Holstein–Friesian Bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(2), 153-161.
- Hoflack, G., Van Den Broeck, W., Maes, D., Van Damme, K., Opsomer, G., Duchateau, L., & Van Soom, A. (2008). Testicular dysfunction is responsible for low sperm quality in Belgian Blue bulls. *Theriogenology*, 69(3), 323-332.
- Hoflack, G., Van Soom, A., Maes, D., de Kruif, A., Opsomer, G., & Duchateau, L. (2006). Breeding soundness and libido examination of Belgian Blue and Holstein Friesian artificial insemination bulls in Belgium and The Netherlands. *Theriogenology*, 66(2), 207-216.
- Howard, J. T., Kachman, S. D., Nielsen, M. K., Mader, T. L., & Spangler, M. L. (2013). The effect of myostatin genotype on body temperature during extreme temperature events. *Journal of Animal Science*, 91(7), 3051-3058.
- Howard, J. T., Kachman, S. D., Snelling, W. M., Pollak, E. J., Ciobanu, D. C., Kuehn, L. A., & Spangler, M. L. (2014). Beef cattle body temperature during climatic stress: a genome-wide association study. *International Journal of Biometeorology*, 58(7), 1665-1672.
- Huson, H. J., Kim, E. S., Godfrey, R. W., Olson, T. A., McClure, M. C., Chase, C. C., & Sonstegard, T. S. (2014). Genome-wide association study and ancestral origins of the slick-hair coat in tropically adapted cattle. *Frontiers in Genetics*, 5, 101.
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science*, 77(1), 59-91.
- Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T. P., & Bass, J. J. (1997). Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese Cattle. *Genome Research*, 7(9), 910-915.
- Kastelic, J. P., Cook, R. B., Coulter, G. H., Wallins, G. L., & Entz, T. (1996). Environmental factors affecting measurement of bovine scrotal surface temperature with infrared thermography. *Animal Reproduction Science*, 41(3), 153-159.

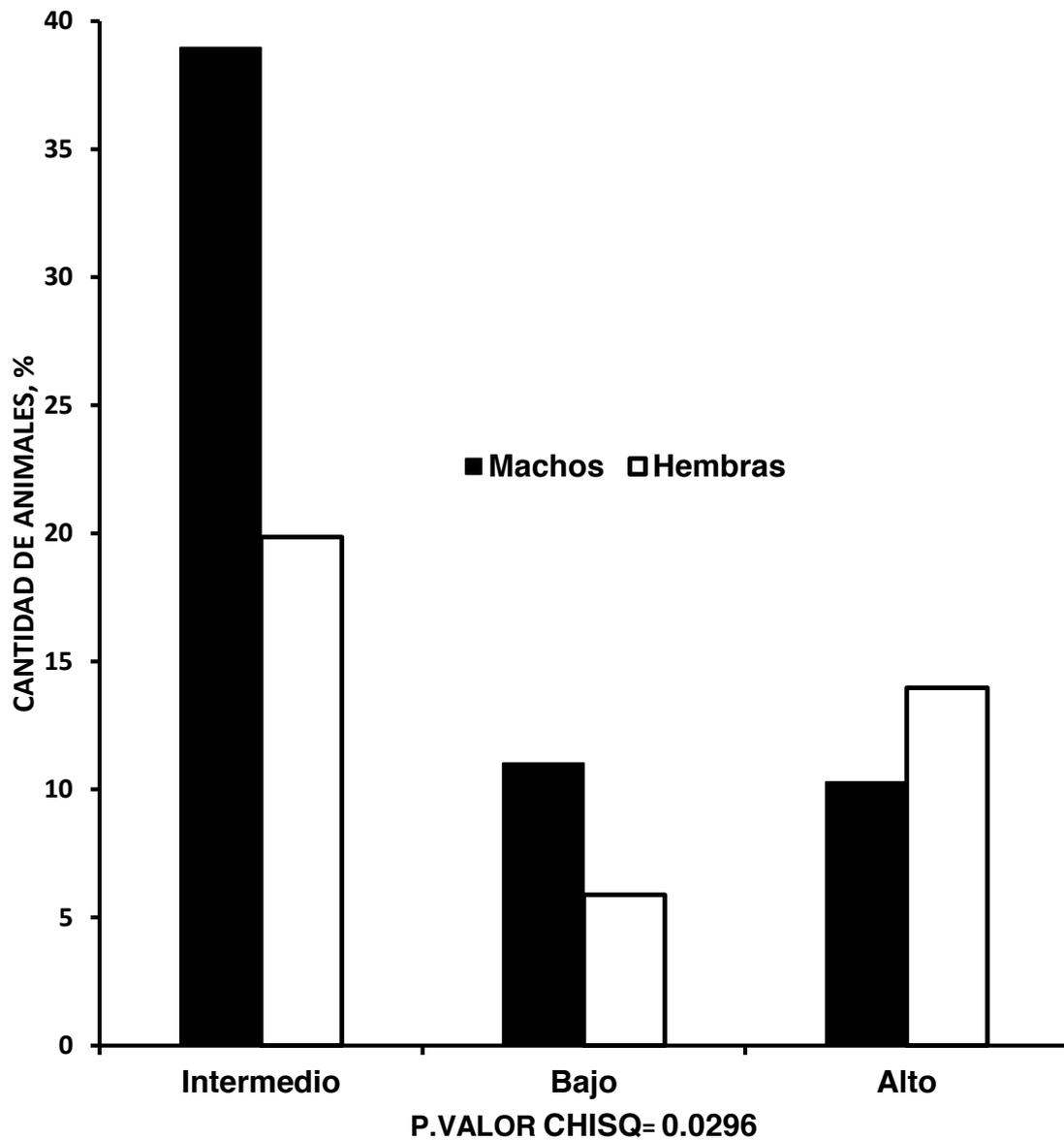
- Kealey, C. G., MacNeil, M. D., Tess, M. W., Geary, T. W., & Bellows, R. A. (2006). Genetic parameter estimates for scrotal circumference and semen characteristics of Line 1 Hereford bulls. *Journal of Animal Science*, *84*(2), 283-290.
- Koivisto, M. B., Costa, M. T. A., Perri, S. H. V., & Vicente, W. R. R. (2009). The effect of season on semen characteristics and freezability in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls in the southeastern region of Brazil. *Reproduction in Domestic Animals*, *44*(4), 587-592.
- Kolkman, I., De Vliegher, S., Hoflack, G., Van Aert, M., Laureyns, J., Lips, D., & Opsomer, G. (2007). Protocol of the caesarean section as performed in daily bovine practice in Belgium. *Reproduction in Domestic Animals*, *42*(6), 583-589.
- Lang, C. H., Silvis, C., Nystrom, G., & Frost, R. A. (2001). Regulation of myostatin by glucocorticoids after thermal injury. *The FASEB Journal*, *15*(10), 1807-1809.
- Lee, S. J., McPherron, A. C. (2001). Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(16), 9306-9311.
- Lee, Y. S., Lehar, A., Sebald, S., Liu, M., Swaggart, K. A., Talbot, C. C. J., Pytel, P., Barton, E.R., McNally, E.M & Lee, S. J., (2015). Muscle hypertrophy induced by myostatin inhibition accelerates degeneration in dysferlinopathy. *Human Molecular Genetics*, *24* (20), 5711-5719.
- Littlejohn, M. D., Henty, K. M., Tiplady, K., Johnson, T., Harland, C., Lopdell, T., Sherlock, R.G., Lukefahr, S.D., Shanks, B.C., Garrick, D.J., Snell, R.G., Spelman, R.J., & Davis, S.R., Garrick, D. J. (2014). Functionally reciprocal mutations of the prolactin signalling pathway define hairy and slick cattle. *Nature Communications*, *5*.
- Lunstra, D. D., & Echtenkamp, S. E. (1982). Puberty in beef bulls: acrosome morphology and semen quality in bulls of different breeds. *Journal of Animal Science*, *55*(3), 638-648.
- Mao, W. H., Albrecht, E., Teuscher, F., Yang, Q., Zhao, R. Q., & Wegner, J. (2008). Growth-and breed-related changes of fetal development in cattle. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, *21*(5), 640.
- Marcell, T. J., Harman, S. M., Urban, R. J., Metz, D. D., Rodgers, B. D., & Blackman, M. R. (2001). Comparison of GH, IGF-I, and testosterone with mRNA of receptors and myostatin in skeletal muscle in older men. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *281*(6), E1159-E1164.
- Mariasegaram, M., Chase, C. C., Chaparro, J. X., Olson, T. A., Brenneman, R. A., & Niedz, R. P. (2007). The slick hair coat locus maps to chromosome 20 in Senepol-derived cattle. *Animal Genetics*, *38*(1), 54-59.

- Mathevon, M., Buhr, M. M., & Dekkers, J. C. M. (1998). Environmental, management, and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*, *81*(12), 3321-3330.
- McCartney, D., Basarab, J. A., Okine, E. K., Baron, V. S., & Depalme, A. J. (2004). Alternative fall and winter feeding systems for spring calving beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*, *84*(3), 511-522.
- McPherron, A. C., Lawler, A. M., & Lee, S. J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *Nature*, *387*, 83-90.
- Menegassi, S. R. O., Barcellos, J. O. J., Dias, E. A., Koetz Jr, C., Pereira, G. R., Peripolli, V., McManus, C., Canozzi, M.E., & Lopes, F. G. (2015). Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *International Journal of Biometeorology*, *59*(3), 357-364.
- Ménissier, F. (1982). Present state of knowledge about the genetic determination of muscular hypertrophy or the double muscled trait in cattle. In *Muscle hypertrophy of genetic origin and its use to improve beef production* (pp. 387-428). Springer Netherlands.
- Meyerhoeffer, D. C., Wettemann, R. P., Coleman, S. W., & Wells, M. E. (1985). Reproductive criteria of beef bulls during and after exposure to increased ambient temperature. *Journal of Animal Science*, *60*(2), 352-357.
- Nichi, M., Bols, P. E. J., Zügel, R. M., Barnabe, V. H., Goovaerts, I. G. F., Barnabe, R. C., & Cortada, C. N. M. (2006). Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. *Theriogenology*, *66*(4), 822-828.
- Olson, T. A., Lucena, C., Chase, C. C., & Hammond, A. C. (2003). Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in cattle. *Journal of Animal Science*, *81*(1), 80-90.
- Palasz, A. T., Cates, W. F., Barth, A. D., & Mapletoft, R. J. (1994). The relationship between scrotal circumference and quantitative testicular traits in yearling beef bulls. *Theriogenology*, *42*(4), 715-726.
- Patterson, D. J., Bellows, R. A., & Burfening, P. J. (1981). Effects of caesarean section, retained placenta and vaginal or uterine prolapse on subsequent fertility in beef cattle. *Journal of Animal Science*, *53*(4), 916-921.
- Ríos, R., Fernández-Nocelos, S., Carneiro, I., Arce, V. M., & Devesa, J. (2004). Differential response to exogenous and endogenous myostatin in myoblasts suggests that myostatin acts as an autocrine factor in vivo. *Endocrinology*, *145*(6), 2795-2803.

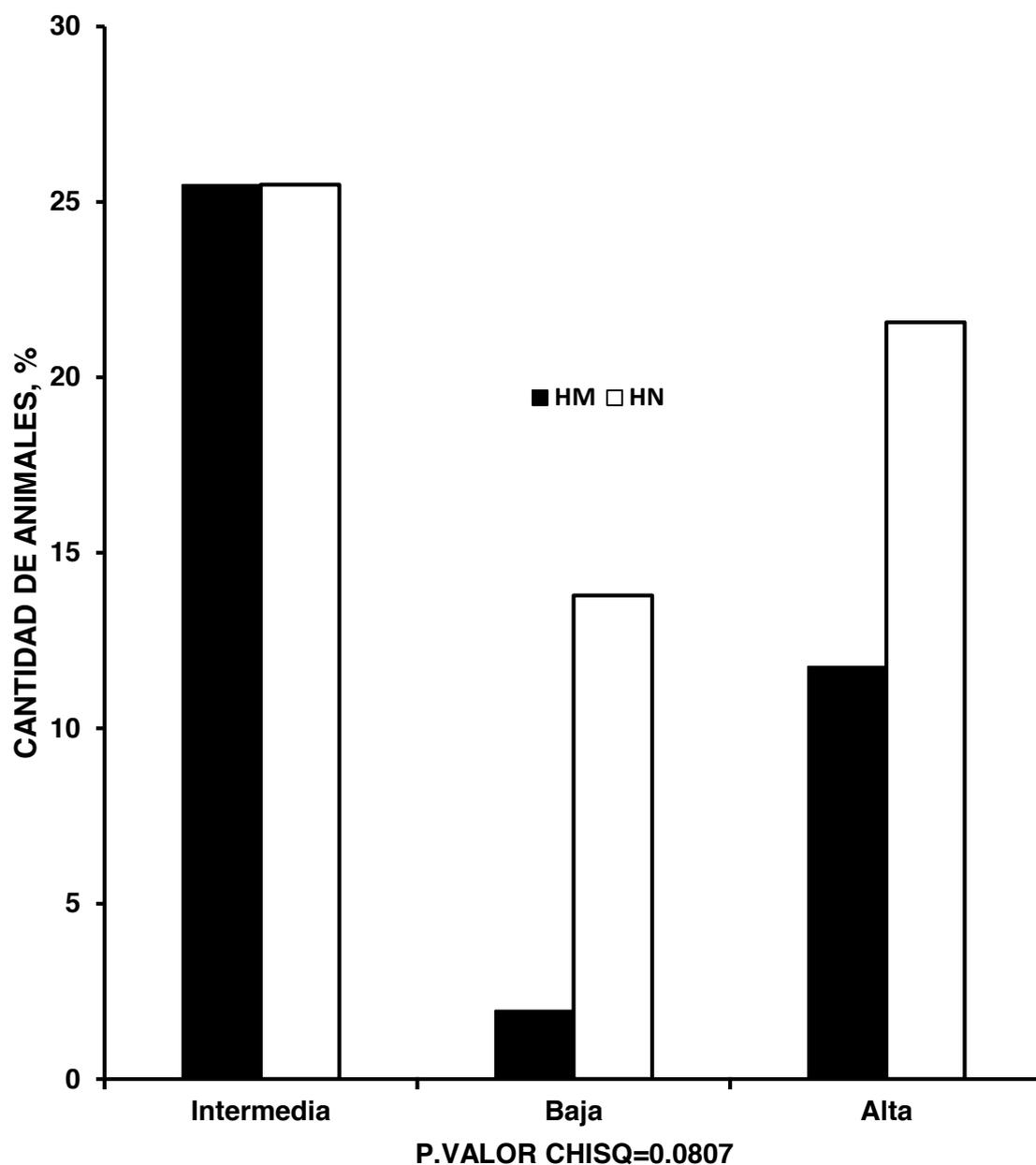
- Schuelke, M., Wagner, K. R., Stolz, L. E., Hübner, C., Riebel, T., Kömen, W., Braun, T., Tobin, J.F., & Lee, S. J. (2004). Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *New England Journal of Medicine*, *350*(26), 2682-2688.
- Sharma, M., Kambadur, R., Matthews, K. G., Somers, W. G., Devlin, G. P., Conaglen, J. V., Fowke, P.J., & Bass, J. J. (1999). Myostatin, a transforming growth factor- β superfamily member, is expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct. *Journal of Cellular Physiology*, *180*(1), 1-9.
- Short, R. E., MacNeil, M. D., Grosz, M. D., Gerrard, D. E., & Grings, E. E. (2002). Pleiotropic effects in Hereford, Limousin, and Piedmontese F2 crossbred calves of genes controlling muscularity including the Piedmontese myostatin allele. *Journal of Animal Science*, *80*(1), 1-11.
- Szabó, G., Dallmann, G., Muller, G., Patthy, L., Soller, M., & Varga, L. (1998). A deletion in the myostatin gene causes the compact (Cmpt) hypermuscular mutation in mice. *Mammalian Genome*, *9*(8), 671-672.
- Taylor, W. E., Bhasin, S., Artaza, J., Byhower, F., Azam, M., Willard, D. H., Kull, F.C., & Gonzalez- Cadavid, N. (2001). Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C2C12 muscle cells. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *280*(2), E221-E228.
- Thomas, M., Langley, B., Berry, C., Sharma, M., Kirk, S., Bass, J., & Kambadur, R. (2000). Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(51), 40235-40243.
- Uytterhaegen, L., Claeys, E., Demeyer, D., Lippens, M., Fiems, L. O., Boucque, C. Y., Van, V.G., & Bastiaens, A. (1994). Effects of double-muscling on carcass quality, beef tenderness and myofibrillar protein degradation in Belgian Blue White bulls. *Meat science*, *38*(2), 255-267.
- Van Cleve, J.F., Collier, R.J., & Machiavelli, R. Efecto de la suplementación con niacina encapsulada y mojaduras repetidas sobre la. Temperatura interna y externa y la tasa respiratoria de vacas lecheras en el trópico húmedo. Memorias de la XXII Reunión ALPA, Montevideo, Uruguay. 24-26 octubre de 2011.
- Vermorel, M., Ortigues, I., Vernet, J., Geay, Y., Jailler, R., Jailler, R., Baumont, R., Hocquette, J.F., Deswysen, A.G. Energy metabolism in normal and double-muscléd Belgian Blue calves in relation with body composition and organ size. In Energy Metabolism of Farm Animals; Aguilera, J.F., Ed.; Consejo Superior de Investigaciones: Granada, Spain, 1994; pp. 209–211.
- Vermunt, J. J. (2008). The caesarean operation in cattle: A review. *Iran. J. Vet. Surg*, *3*(Suppl 1), 82-100.

- Vissac, B., Perreau, B. (1968). Étude du caractère culard. II. Incidence du caractère culard sur la morphologie générale des bovins. *Annales de Zootechnie*, 17(1), 77-101.
- Vissac, B., Perreau, B., Mauleon, P., Menissier, F., de Fontaubert, Y., Manis, Y., & Marchand, H. (1974). Etude du caractère culard ix.-fertilité des femelles et aptitude maternelle. In *Annales de Génétique et de Sélection animale* (Vol. 6, No. 1, pp. 35-48). EDP Sciences.
- Wehling, M., Cai, B., Tidball, J. G. (2000). Modulation of myostatin expression during modified muscle use. *The FASEB Journal*, 14(1), 103-110.
- Willoughby, D. S., Wilborn, C. D. (2006). Estradiol in females may negate skeletal muscle myostatin mRNA expression and serum myostatin propeptide levels after eccentric muscle contractions. *Journal of Sports Science and Medicine*, 5(4), 672-681.
- Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science*, 60, 535-547.
- Wolfman, N. M., McPherron, A. C., Pappano, W. N., Davies, M. V., Song, K., Tomkinson, K. N., & Lee, S. J. (2003). Activation of latent myostatin by the BMP-1/tolloid family of metalloproteinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15842-15846.
- Yarasheski, K. E., Bhasin, S., Sinha-Hikim, I., Pak-Loduca, J., Gonzalez-Cadavid, N. F. (2002). Serum myostatin-immunoreactive protein is increased in 60-92-year-old women and men with muscle wasting. *Journal of Nutrition Health and Aging*, 6(5), 343-348.
- Zamora, E., Galán, A., Simó, R. (2008). Papel de la miostatina en la afectación muscular asociada a las enfermedades crónicas. *Medicina Clínica*, 131(15), 585-590.
- Zimmers, T. A., Davies, M. V., Koniaris, L. G., Haynes, P., Esquela, A. F., Tomkinson, K.N., McPherson, A.C., Wolfman, N.M., & Lee, S. J. (2002). Induction of cachexia in mice by systemically administered myostatin. *Science*, 296(5572), 1486-1488.

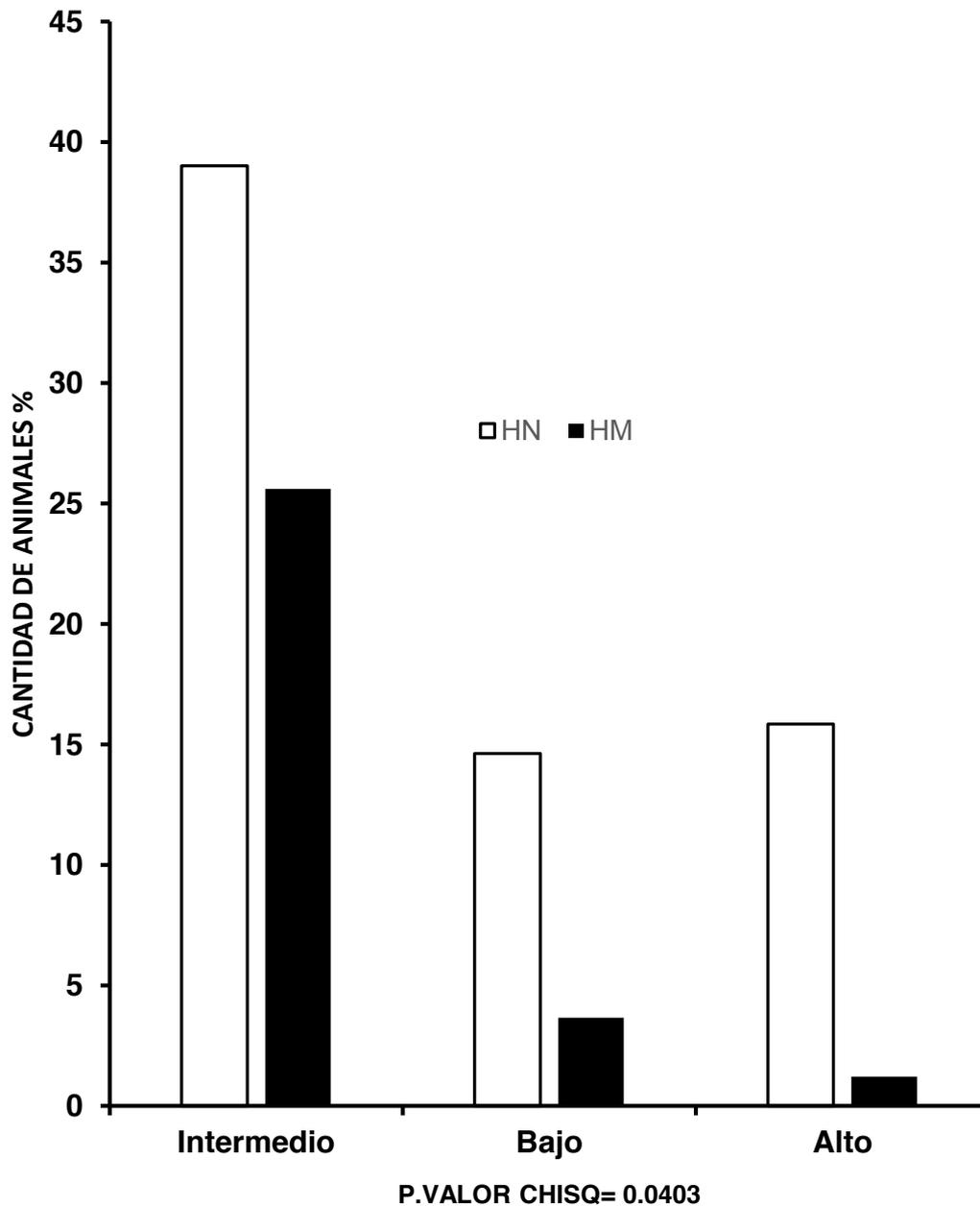
9. APENDICE



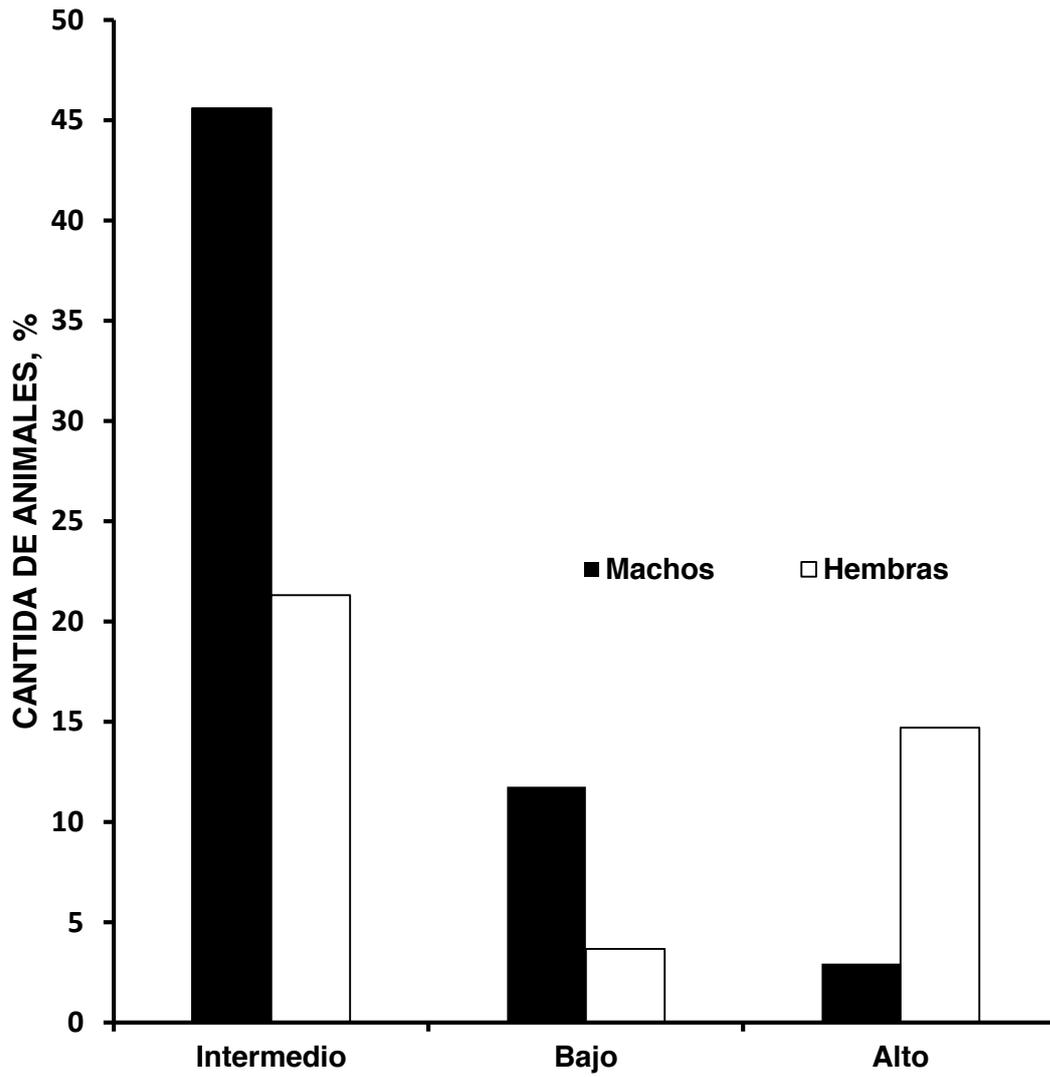
Apéndice 1. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para ganancia en peso diaria según sexo.



Apéndice 2. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para ganancia en peso diaria en hembras con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).

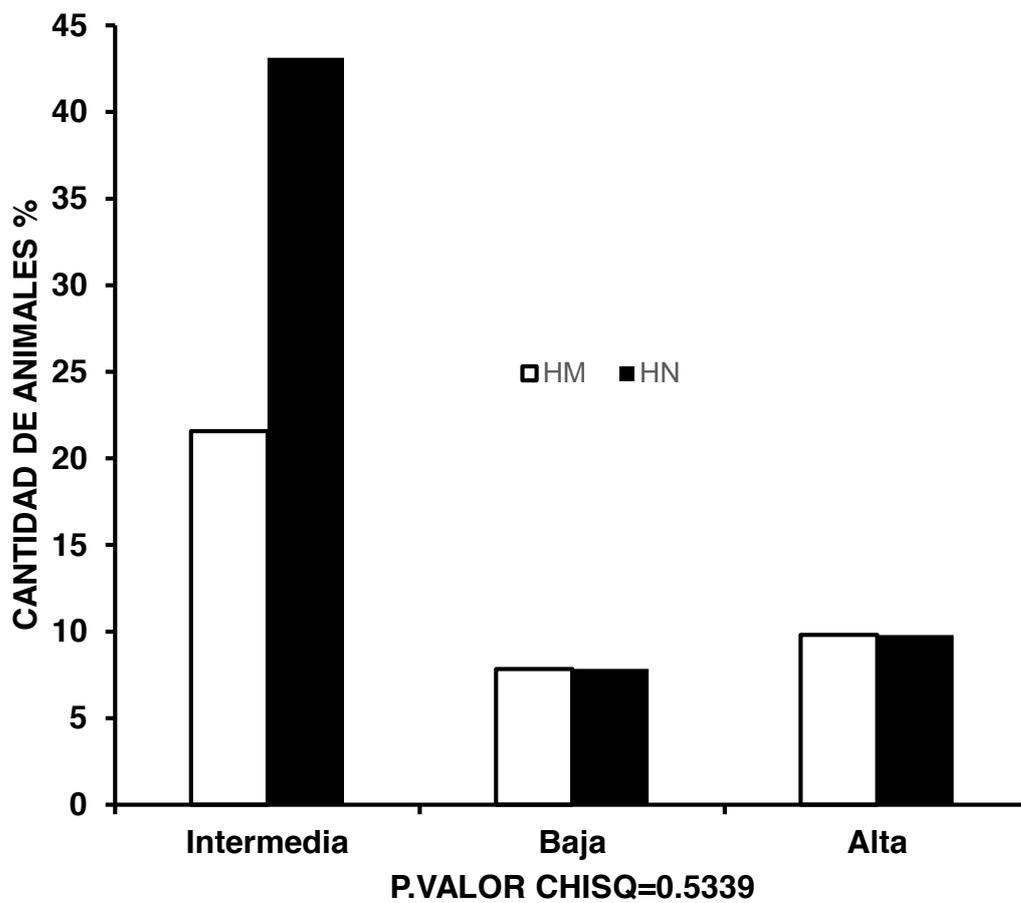


Apéndice 3. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para ganancia en peso diaria en machos con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).

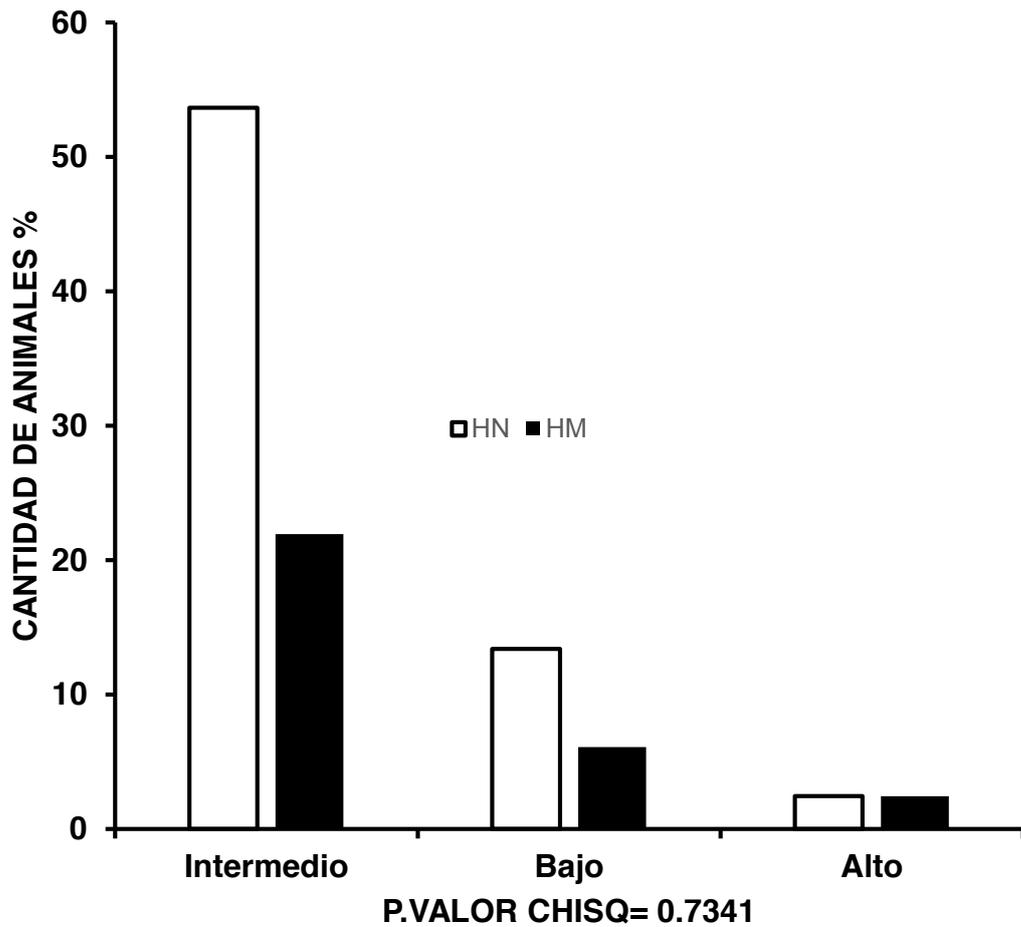


P.VALOR CHISQ= 0.000072

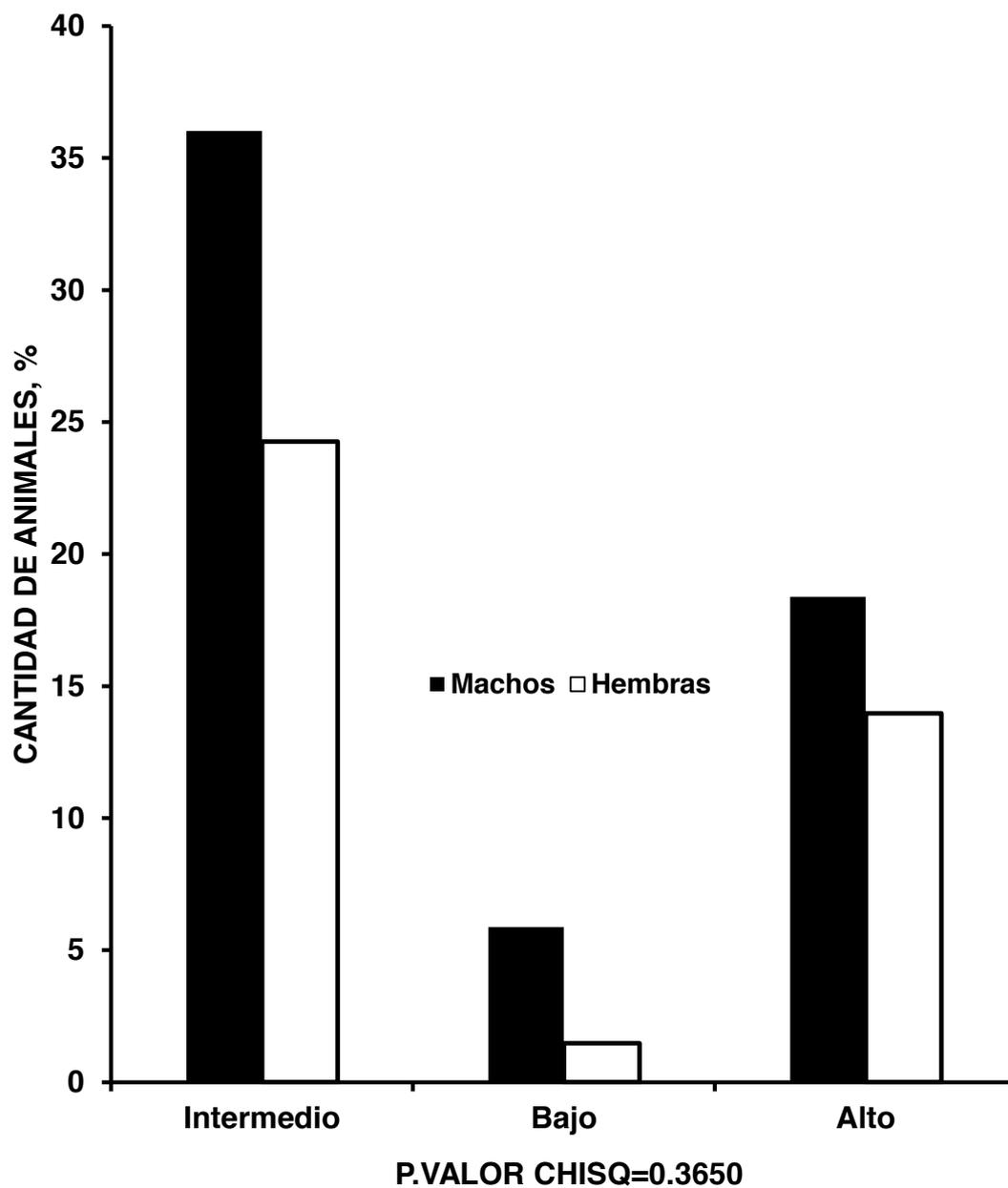
Apéndice 4. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para porciento de preñez según sexo.



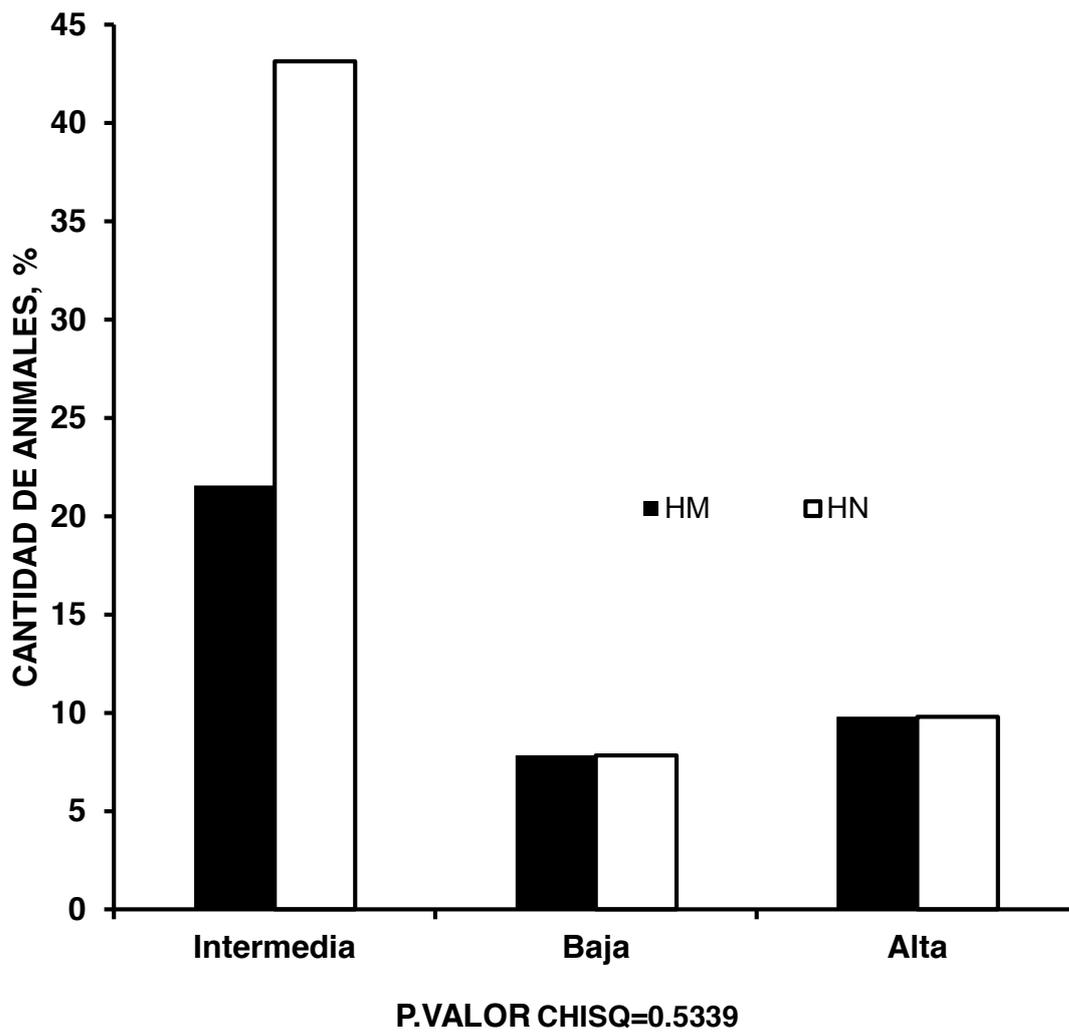
Apéndice 5. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para porcentaje de preñez en hembras con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).



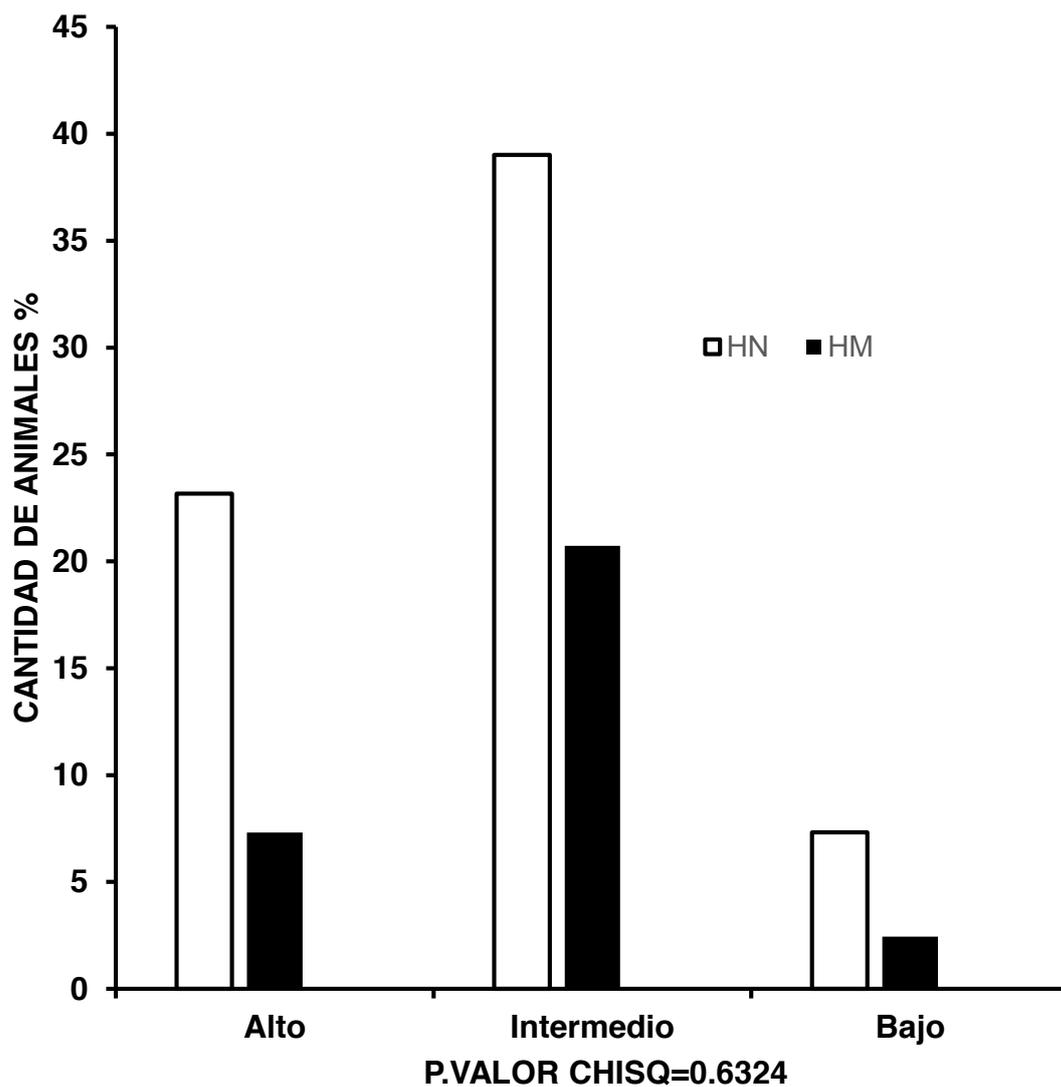
Apéndice 6. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para porcentaje de preñez en machos con hipertrofia muscular (HM) y musculatura normal (HN).



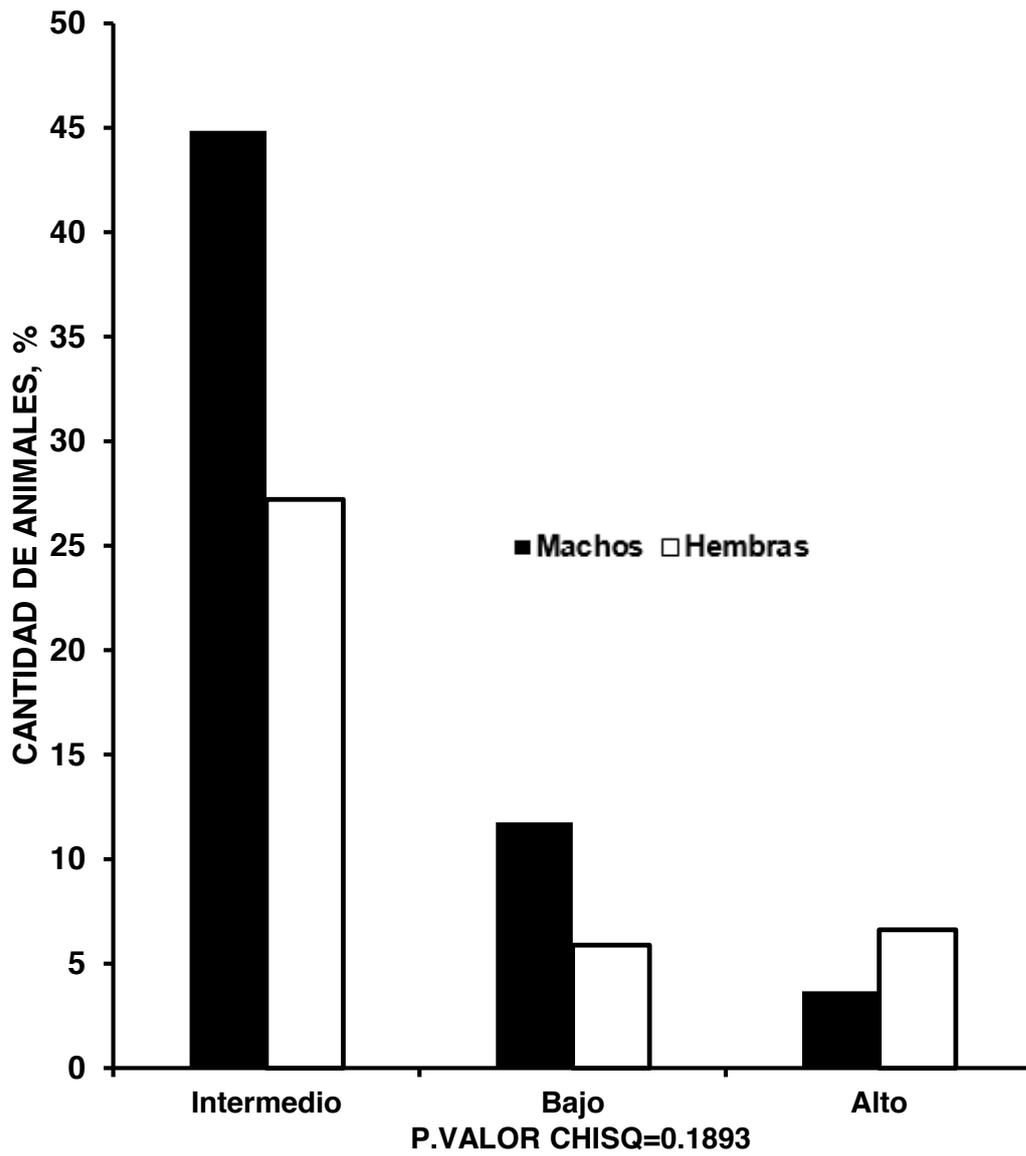
Apéndice 7. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para longevidad según sexo.



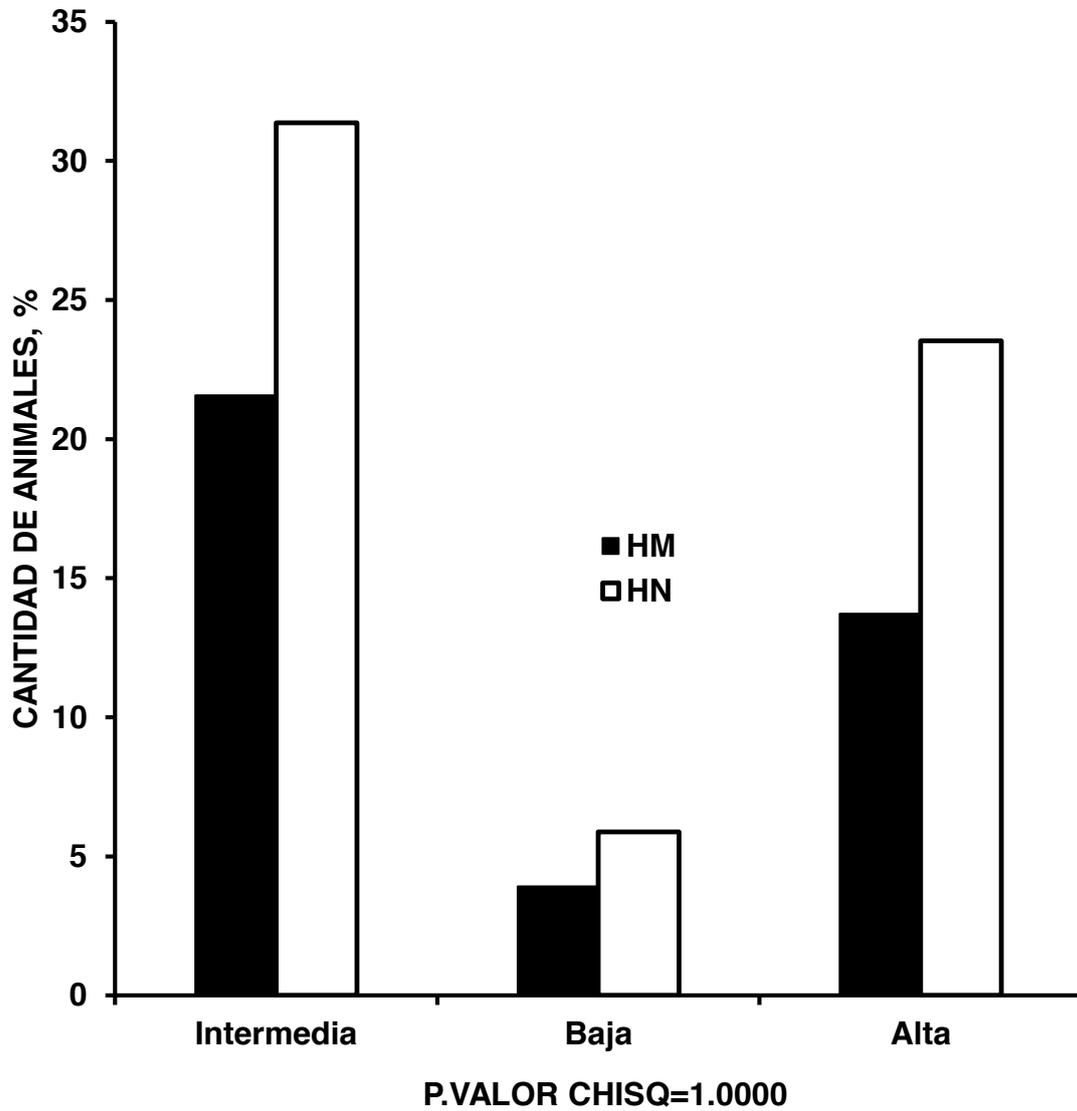
Apéndice 8. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para longevidad en hembras con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).



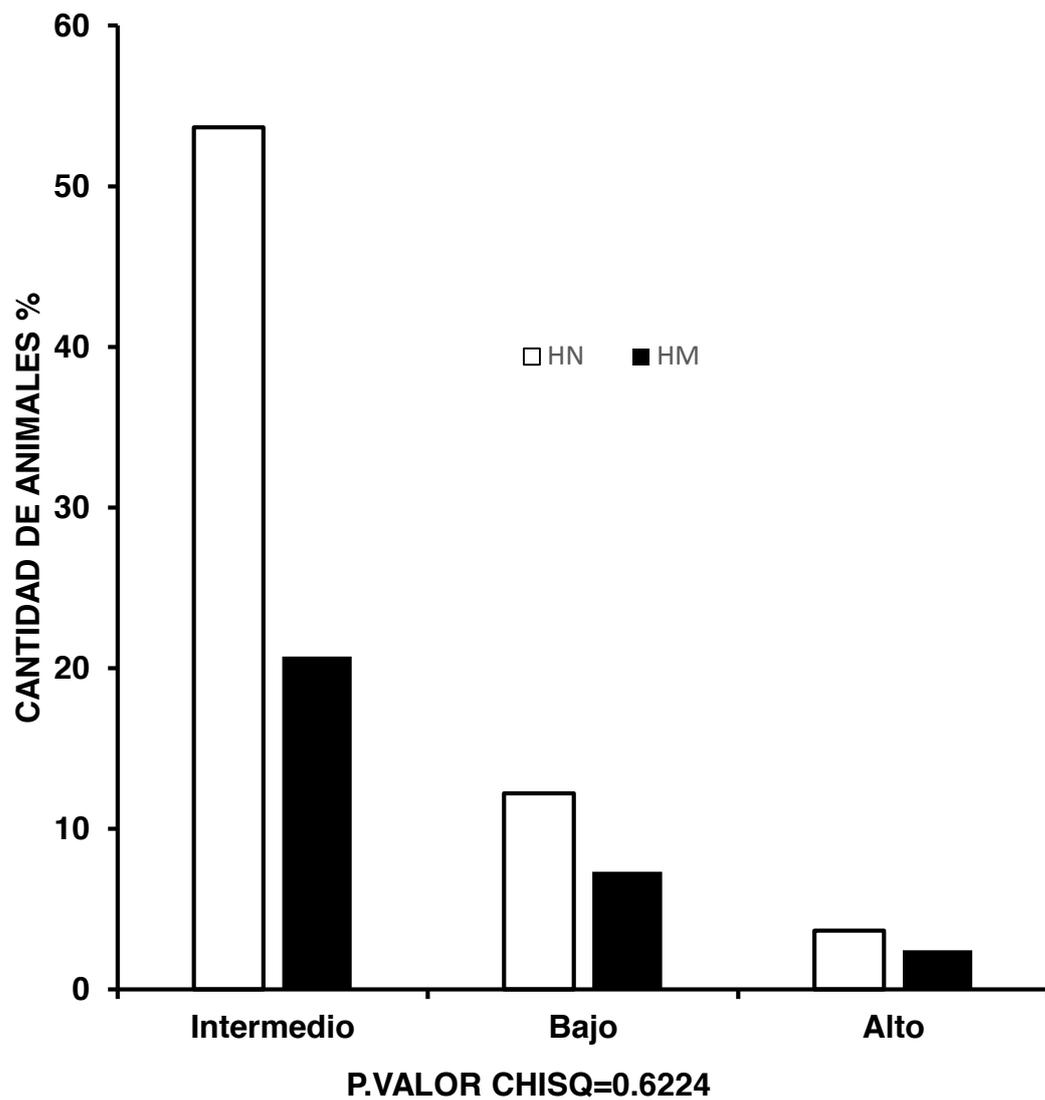
Apéndice 9. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para longevidad en machos con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).



Apéndice 10. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para facilidad al parto según sexo.



Apéndice 11. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para facilidad al parto en hembras con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).



Apéndice 12. Distribución de animales según categoría de valor de cría molecular (MBV; Alto, Intermedio, Bajo) para facilidad al parto en machos con hipertrofia muscular (HM) y de musculatura normal (HN).