

UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Respuesta al estrés calórico en bovinos criollos Caqueteños y grupos de cruces *Bos taurus*, *Bos indicus* en el piedemonte amazónico colombiano.**

**Gustavo Adolfo Celis Parra**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Palmira, Colombia

2022

# **Respuesta al estrés calórico en bovinos criollos Caqueteños y grupos de cruces *Bos taurus*, *Bos indicus* en el piedemonte amazónico colombiano.**

**Gustavo Adolfo Celis Parra**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de  
**Doctor en Ciencias Agrarias**

Directora:

Ph.D. Lida Inés Mancilla Estacio

Codirectora:

Ph.D. Lucena Vásquez Gamboa

Línea de Investigación:

Producción Animal Tropical

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Palmira, Colombia

2022

*El presente trabajo está dedicado a mi esposa Marisol González Muñoz a mis hijos Gloria Alejandra Celis González, Juan José Celis González y a mis padres María Herminia Parra y Edilberto Celis Mazabel.*

## Declaración de obra original

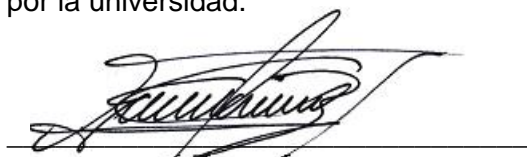
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Gustavo Adolfo Celis Parra', is written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

Gustavo Adolfo Celis Parra

Fecha 22/03/2022

# Agradecimientos

El autor les agradece a las doctoras Lucena Vázquez Gamboa y Lida Inés Mancilla Estacio por su aporte constante a la realización del trabajo de investigación, a la Universidad Nacional de Colombia y Universidad de la Amazonía, quien contribuyo con la realización de la presente investigación.

## Resumen

### **Respuesta al estrés calórico en bovinos criollos Caqueteños y grupos de cruces *Bos taurus*, *Bos indicus* en el piedemonte amazónico colombiano.**

El calentamiento global está generando estrés calórico en los animales cambiando el comportamiento etológico y disminuyendo los parámetros productivos, por tal razón en las regiones tropicales y ecuatoriales como la amazonia colombiana, se realizan cruces de bovinos de razas *Bos indicus* por *Bos taurus* para tener genes de producción y de resistencia, desconociendo el recurso zoogenético local criollo Caqueteño, adaptado a condiciones ambientales y agroecológicas de la región.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta al estrés calórico en bovinos criollos Caqueteños y grupos de cruces entre *Bos taurus* con *Bos indicus*, determinando la longitud, densidad, peso, diámetro en el pelo, las variables fisiológicas temperatura superficial, frecuencia respiratoria y determinando el polimorfismo de los genes prolactina (PRL), su receptor (PRLR), estas variables se relacionaron con el comportamiento de los animales en pastoreo. Además se determinaron los índices de estrés calórico, el índice de calor (IC), índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), índice de temperatura humedad (ITH), índice de carga de calor, humedad y viento (ICC), índice de humedad en globo negro (IHGN) el índice de temperatura humedad y viento (ITHV), índice enfriamiento por el viento (IEV) e índice del límite de trabajo térmico (ILTT) para determinar las correlaciones con las variables temperatura superficial y frecuencia respiratoria.

La investigación se realizó en una finca situada en Amazonía colombiana, región de clima tropical lluvioso de selva (Af). Se utilizaron 44 vacas, 24 eran de la raza criollo Caqueteño y vacas doble propósito multirraciales divididas en dos grupos, 10 animales cruzados donde predominaba la genética de *B. taurus* (superior al 50%) y otras 10 vacas donde predominaba la genética de *B. indicus* (superior al 50%) determinado por los registros en el Software ganadero (SG), con promedio  $46 \pm 14$  meses de edad.

Una actividad inicial que se realizó fue la extracción de ADN de sangre periférica, células de epitelio de nariz y epitelio de boca, se realizó análisis de varianza (ANOVA) y prueba de

Fisher LSD para comparación de medias entre las concentraciones, determinando diferencias con nivel de significancia  $p < 0,05$ . Se encontró buenas concentraciones de ADN en la sangre periférica ( $70,86 \pm 9,1b \mu\text{g}/\mu\text{L}^b$ ), células de epitelio de nariz ( $58,73 \pm 29,9 \mu\text{g}/\mu\text{L}^{ab}$ ) y epitelio de boca ( $48,78 \pm 45,9 \mu\text{g}/\mu\text{L}^a$ ), lo que demuestra que las tres técnicas permiten extraer ADN de buena cantidad y calidad. Los pelajes de los Caqueteños fueron de color bayo, los *B. indicus* principalmente blanco y los *B. taurus* negros; la longitud del pelo  $5,0 \pm 0,14^a$ ;  $6,45 \pm 0,7^b$  y  $6,27 \pm 0,7^b$  mm respectivamente, la densidad  $8,54 \pm 0,4^a$ ;  $12,71 \pm 0,6^b$  y  $12,75 \pm 0,6^b$  unid/mm<sup>2</sup> respectivamente y el peso  $1,02 \pm 0,0031^a$ ;  $1,04 \pm 0,01^a$  y  $1,03 \pm 0,01^{ab}$  g/cm<sup>2</sup> respectivamente presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) siendo menor en el Caqueteños.

Se analizaron las secuencias de un fragmento del gen de prolactina (PRL) y de su receptor (PRLR) debido a que participan en el desarrollo del cabello y la homeotermia, En el PRL se encontraron 11 alelos, que presentaron mutaciones que no presentaron alteraciones importantes de la prolactina, por lo tanto no presentó alteración en el fenotipo de los animales que influyera en la morfometría del pelo. De los hallazgos en PRLR se encontraron 4 alelos que presentaban una mutación en el cromosoma 23, lo que produce una pérdida de información en la proteína codificada, por lo tanto, a nivel fenotípico se presume que genera pelo corto en el Criollo Caqueteño.

Se encontró alta relación positiva con la expresión del estrés calórico en los animales de las variables ambientales temperatura en globo negro (TGN), seguido de temperatura ambiental (TA), mientras la humedad relativa (HR) presentó correlación negativa. En el análisis de correlaciones entre los índices relacionados con el estrés calórico con las variables de temperatura superficial, frecuencia respiratoria y comportamiento se encontró que los mejores fueron el índice de calor (IC), índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH) e índice de carga calórica (ICC). El pelaje claro, la menor longitud, densidad y peso del pelo encontradas en el grupo de Caqueteños se asociaron con parámetros fisiológicos como las menores frecuencias respiratorias (FR) y baja temperatura superficial (TS).

Los animales pueden expresar estrés calórico desde las primeras horas de la mañana (7 am), por temperatura ambiental (TA) superior a  $25,0^\circ\text{C}$ . Los índices de estrés fueron

menores en el mes de julio, mientras en septiembre se presentaron los más altos índices. En condiciones de altas temperaturas los bovinos Caqueteños, interrumpen menos su pastoreo, seguido de los *B. indicus*. Los animales con mayor incidencia de los *B. taurus* son más afectados por las altas temperaturas, disminuyendo el pastoreo y dedican más tiempo al descanso en la sombra y al consumo de agua. La temperatura superficial (TS) en la hora de mayor TA fue superior en el *B. taurus* (38.7°C), seguidos de *B. indicus* (38,4°C) y criollo Caqueteño (38,1°C). La frecuencia respiratoria (FR) también presentó la misma tendencia siendo mayor en los *B. taurus* (45 rpm), seguido de los *B. indicus* (40,7 rpm) y los menores en los criollos Caqueteños (39,5 rpm).

Al analizar el polimorfismo en el gen de prolactina (PRL), su receptor (PRLR) y al asociarla con las medidas morfométricas del pelo (longitud, peso, diámetro, densidad), con las variables fisiológicas (temperatura superficial (TS) y frecuencia respiratoria (FR)) y con variables de comportamiento etológico determinadas durante seis meses. Se observaron patrones polimórficos específicos de cada grupo racial en los dos genes evaluados. En el grupo criollo Caqueteño se encontró que la diversidad encontrada en el gen PRLR podría tener una mayor asociación con el fenotipo, ya que permite explicar parcialmente la mayor adaptación del bovino criollo Caqueteño.

**Palabras clave:** Bovino Criollo Caqueteño, recurso zoogenético local, estrés calórico, PRL y PRLR, pelo corto, frecuencia respiratoria, temperatura superficial.



## Abstract

### **Response to heat stress in Caqueteño Criollo cattle and *Bos taurus*, *Bos indicus* crossbreed groups in the Colombian Amazon piedmont.**

Global warming is generating caloric stress in animals changing their ethological behavior and reducing the productive parameters. Consequently, in tropical and equatorial regions such as the Colombian Amazon, cattle crossing from *Bos indicus* to *Bos taurus* is developed to obtain genes of production and resistance, without considering local creole zoogenetic Caqueteño (from Caquetá) resource adapted to the environmental and agroecological conditions of the region.

Therefore, the objective of the research study was to determine the morphometric, physiological, molecular and ethological measurements comparing them between the Caqueteña Creole breed and groups of crossbreeds where some of them were dominated by *Bos indicus* and others by *Bos taurus*. Determining length, density, weight, hair diameter; and the polymorphism of the prolactin (PRL) and its receptor (PRLR) genes; these variables were related to the physiological behaviour, surface temperature and respiratory frequency of grazing animals. In addition, the heat stress indices, heat index (HI), index of humid black globe temperature (ITGNH), index of humidity temperature (ITH), index of heat, humidity and wind load (ICC), index of humidity in black globe (IHGN), index of humidity temperature and wind (ITHV), index of wind chill (IEV) and the index limit of thermal work (ILTT) were determined to determine the correlations with the variables surface temperature and respiratory frequency.

The research was developed in the Colombian Amazonia, which is a tropical, rainy and jungle region (Af). There were used 44 cows where 24 were from Caquetá Creole breed and other were dual purpose and multi-races divided in two groups of ten crossing animals, one group were the genetic of *Bos indicus* was the predominant (over 50%) predominate and the other, were the genetic of *Bos taurus* was the predominant (over 50%).

On the other hand, to the variables evaluated was determined descriptive statistic and variance analysis (ANAVA) Fisher's test to compare means, determining differences with a

significant level of  $p < 0.05$ . Therefore, correlational analyses were doing between variables and races. One of the activities developed was to determine ADN concentrations obtained from the peripheral blood ( $70.86 \pm 9.1b \mu\text{g}/\mu\text{L}^b$ ), epithelium cells from the nose ( $58.73 \pm 29.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}^{ab}$ ) and epithelium from mouth ( $48.78 \pm 45.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}^a$ ). The ADN extracted was good in quantity and quality. The skin of animals was dark, in the case of Caqueteño dark brown and *B. indicus* y *B. taurus* black. Also, the fur color of Caqueteño was bayo, the *B. indicus* light and white and *B. taurus* black; the hair length ( $5.0 \pm 0.14^a$ ;  $6.45 \pm 0.7^b$  y  $6.27 \pm 0.7^b$  mm respectively), the density ( $8.54 \pm 0.4^a$ ;  $12.71 \pm 0.6^b$  y  $12.75 \pm 0.6^b$  unit/mm<sup>2</sup> respectively) and the weight ( $1.02 \pm 0.0031^a$ ;  $1.04 \pm 0.01^a$  y  $1.03 \pm 0.01^{ab}$  g/cm<sup>2</sup> respectively) presented meaningful differences ( $p < 0.05$ ) being minor in Caqueteños.

An initial activity carried out was the extraction of DNA from peripheral blood, nose epithelium and mouth epithelium cells, which were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Fisher LSD test to compare means between concentrations, determining differences with a significance level of  $p < 0.05$ . Good DNA concentrations were found in peripheral blood ( $70.86 \pm 9.1b \mu\text{g}/\mu\text{L}^b$ ), nose epithelium cells ( $58.73 \pm 29.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}^{ab}$ ) and mouth epithelium ( $48.78 \pm 45.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}^a$ ), which shows that the three techniques allow the extraction of DNA of good quantity and quality. In the Caqueteña Creole breed, the crossbred animals with the highest proportion of *B. indicus* and those with the highest proportion of *B. taurus*, the following were found: hair length  $5.0 \pm 0.14^a$ ;  $6.45 \pm 0.7^b$  and  $6.27 \pm 0.7^b$  mm respectively, density  $8.54 \pm 0.4^a$ ;  $12.71 \pm 0.6^b$  and  $12.75 \pm 0.6^b$  unid/mm<sup>2</sup> respectively and weight  $1.02 \pm 0.0031^a$ ;  $1.04 \pm 0.01^a$  and  $1.03 \pm 0.01^{ab}$  g/cm<sup>2</sup> respectively. Presented meaningful differences ( $p < 0.05$ ) being minor in Caqueteño Creole breed.

The sequences of a fragment of the prolactin gene (PRL) and its receptor (PRLR) were analysed because they are involved in hair development and homeothermy. 11 alleles were found in PRL, which presented mutations that did not present important alterations in prolactin, and therefore did not present alterations in the phenotype of the animals that influenced the morphometry of the hair. Of the findings in PRLR, 4 alleles were found that presented a mutation in chromosome 23, which produces a loss of information in the encoded protein, therefore, at a phenotypic level it is presumed that it generates short hair in the Caqueteño Creole.

A high positive relationship was found between the expression of heat stress in the animals caused by the environmental variables temperature in black globe (BGT), followed by ambient temperature (ET) and negative correlation with relative humidity (RH). In the analysis of correlations between the indices, it was found that those that best help to explain the heat stress in the animals are the heat index (HI), index of temperature in wet black globe (ITGNH) and index of caloric load (ICL). The light coat, lower hair length, density and weight found in the Caqueteño group were associated with physiological parameters such as lower respiratory rates (RF) and low surface temperature (ST).

Animals can enter in heat stress since the first morning hours (7 am), as consequence of ambient temperature (AT) above 25.0°C. The stress indices varied according to the month, the lowest records were found in July, while the highest indices were found in September. In high temperature conditions, the Caqueteño cattle, followed by the *B. indicus*, interrupt their grazing the least. Animals with higher incidence of *B. taurus* are more affected by high temperatures, decreasing grazing and spending more time resting in the shade and drinking water. Surface temperature (ST) at the hour of highest TA was higher in *B. taurus* (38.7°C), followed by *B. indicus* (38.4°C) and Criollo Caqueteño (38.1°C). The respiratory frequency (RF) also showed the same trend being higher in *B. taurus* (45 rpm), followed by *B. indicus* (40.7 rpm) and the lowest in Caqueteño Creole (39.5 rpm).

The analysis of the polymorphism in the prolactin gene (PRL) and its receptor (PRLR), associated with the morphometric measurements of the hair (length, weight, diameter, density), with physiological variables (surface temperature (TS) and respiratory frequency (FR)) and with ethological behavioural variables determined during six months, show that there are specific polymorphic patterns for each breed group in the two genes evaluated. In the Caqueteño Creole group, it was found that the diversity found in the PRLR gene could have a greater association with the phenotype, as it partially explains the greater adaptation of the Caqueteño Creole cattle.

**Key words:** Creole Caqueteño Cattle, heat stress, PRL and PRLR, short hair, respiratory rate, surface temperature.

# Tabla de contenido

	<b>Pág.</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>6</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>9</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>22</b>
<b>1. Objetivos.....</b>	<b>33</b>
1.1 Objetivo General .....	33
1.2 Objetivos Especificos .....	33
<b>2. Marco Teórico.....</b>	<b>33</b>
2.1 Introducción .....	34
2.2 Consecuencias del estrés calórico y los procesos termorreguladores en los bovinos .....	35
2.3 Los sistemas de producción bovino y los tipos raciales presentes en el Departamento de Caquetá.....	40
2.4 La raza Criolla Caqueteño.....	41
2.5 Genes relacionados con el estrés calórico .....	43
2.6 Funciones de la prolactina en el estrés calórico .....	46
2.7 El pelaje y las medidas morfométricas del pelo como parámetros relacionados con el estrés calórico. ....	48
2.8 Las variables ambientales y su relación con el estrés calórico en los bovinos....	50
2.9 Los Índices para determinar el estrés calórico.....	51
2.10 Cambios de las variables fisiológicas como respuesta al estrés calórico.....	53
2.11 La temperatura superficial (TS) como variable de respuesta al estrés calórico.....	54
2.12 Frecuencia respiratoria (FR).....	56

<b>Bibliografía.....</b>	<b>56</b>
<b>3. Morfometría del pelo y mutaciones funcionales del gen de la prolactina (PRL) y del receptor (PRLR) y su incidencia en la tolerancia al calor en bovinos.....</b>	<b>74</b>
<b>Resumen. ....</b>	<b>74</b>
3.1 Introducción. ....	76
3.2 Materiales y métodos. ....	81
3.2.1 Ubicación geográfica.....	81
3.2.2 Área de estudios e instalaciones.....	81
3.2.3 Animales. ....	81
3.2.4 Consideraciones de Bienestar Animal.....	82
3.2.5 Toma de muestra de pelo. ....	82
3.2.6 Determinación de las medidas morfométricas del pelo. ....	82
3.2.7 Determinación de temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) e índice de temperatura humedad (ITH), frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial (TS). ....	82
3.2.8 Análisis de datos. ....	83
3.2.9 Extracción ADN de células epiteliales de la nariz y boca.....	84
3.2.10 Extracción ADN de tejido sanguíneo. ....	85
3.2.11 Purificación del ADN genómico por precipitación salina. ....	86
3.2.12 Cuantificación y visualización del ADN genómico. ....	86
3.2.13 Amplificación de los genes de Prolactina y su receptor por PCR. ....	87
3.2.14 Secuenciación de los genes de PRL y PRLR y ensamblaje de ADN.....	88
3.2.15 Caracterización de amplicones PRL y PRLR y análisis de polimorfismos.....	88
3.2.16 Análisis filogenéticos basados en genes PRL y PRLR. ....	88
3.3 Resultados.....	90
3.3.1 Caracterización de la población de estudio. ....	90
3.3.2 Colecta, transporte y almacenamiento de muestras de ADN. ....	90
3.3.3 Estimación de Concentración de ADN por espectrofotómetro.....	90
3.3.4 Estimación de concentración de ADN por espectrofotometría.....	92
3.3.5 Visualización del ADN de las muestras de boca, nariz y sangre. ....	93
3.3.6 Determinación de la calidad del ADN de muestras de células epiteliales bucales, nasales y tejido sanguíneo.....	94

3.3.7	Evaluación de la temperatura ambiente (TA), humedad relativa (HR) e índice temperatura humedad (ITH).....	95
3.3.8	Color de piel y pelaje en los bovinos. ....	97
3.3.9	Morfometría del pelo en los bovinos.....	98
3.3.10	Temperatura superficial y frecuencia respiratoria como indicadores del estrés calórico en bovinos. ....	100
3.3.11	Análisis de componentes principales de las medidas morfométricas del pelo y su incidencia en la frecuencia respiratoria y temperatura superficial.....	102
3.3.12	Incidencia de las características morfométricas y moleculares sobre la frecuencia respiratoria y temperatura superficial que expresan estrés calórico. ..	104
3.3.13	Caracterización de amplicones PRL y PRLR. ....	105
3.3.14	Distribución y análisis de sitios polimórficos. ....	106
3.3.15	Relaciones filogenéticas basadas en regiones PRL y PRLR.....	109
3.4	Discusión. ....	112
3.4.1	Incidencia de la Temperatura ambiental sobre el estrés calórico en los bovinos.....	113
3.4.2	Color de piel y del pelaje en la expresión de estrés calórico en los bovinos.....	113
3.4.3	Morfometría del pelo y su efecto en el estrés calórico.....	115
3.4.4	Incidencia de las características morfométricas sobre la frecuencia respiratoria, temperatura superficial que expresan estrés calórico. ....	117
3.4.5	Caracterización de la secuenciación de los genes de la prolactina PRL y el receptor de la prolactina PRLR y sus posibles efectos en el estrés calórico.....	120
3.4.6	Caracterización de sitios polimórficos del PRL y PRLR.....	121
3.4.7	Relaciones filogenéticas.....	122
3.5	Conclusiones .....	124
<b>Bibliografía.....</b>		<b>125</b>
<b>4. Comportamiento etológico de bovinos de raza criollo Caqueteño y cruces raciales Bos taurus y Bos indicus en condiciones de trópico bajo húmedo.....</b>		<b>133</b>
Resumen. ....		133
4.1	Introducción .....	135
4.2	Materiales y métodos. ....	139
4.2.1	Ubicación Geográfica.....	139
4.2.2	Área de estudio.....	139
4.2.3	Animales.....	139

4.2.4	Determinación de variables ambientales.....	140
4.2.5	Determinación de índices relacionados con el estrés calórico.....	140
4.2.6	Variables fisiológicas.....	140
4.2.7	Consideraciones éticas y de bienestar animal.....	141
4.3	Metodología .....	141
4.3.1	Análisis de datos.....	142
4.4	Resultados.....	144
4.4.1	Evaluación de las variables ambientales.....	144
4.4.2	Índices relacionados con el estrés calórico. ....	147
4.4.3	Evaluación del comportamiento etológico. ....	150
4.5	Discusión .....	155
4.5.1	Variables ambientales relacionadas con el estrés calórico en bovinos..	155
4.5.2	Índices relacionados con el estrés calórico .....	157
4.5.3	Cambios en el comportamiento etológico como respuesta al estrés calórico.....	160
4.5.4	Variaciones en la temperatura superficial y frecuencia respiratoria como respuesta al estrés calórico.....	163
4.5.5	Análisis del comportamiento etológico y cambios fisiológicos en los bovinos.....	165
4.5.6	Análisis de correlaciones entre variables asociadas al estrés calórico. .	167
4.6	Conclusiones .....	172
	<b>Bibliografía.....</b>	<b>178</b>

# Índice de figuras

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 3-1:</b> Curva de calibración de absorbancia para determinar concentración de ADN (ng/μL) por espectrofotómetro.....	91
<b>Figura 3-2:</b> Curvas de absorbancias ADN muestras de células epiteliales de nariz, boca y sangre de bovinos. ....	92
<b>Figura 3-3:</b> Concentraciones de ADN de células epiteliales de la boca, de la nariz y de tejido sanguíneo.....	93
<b>Figura 3-4:</b> ADN genómico de bovinos extraído en muestras de mucosa bucal, células epiteliales de la nariz y tejido sanguíneo, con la técnica de <i>salting out</i> . El ADN separado por electroforesis en gel de agarosa al 1% con colorante EZvision®. ....	94
<b>Figura 3-5:</b> Amplificación por PCR con los <i>primers</i> del gen de la prolactina PRL. Una fracción de 10 μl se amplificó y se separó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, con colorante EZvision®.....	95
<b>Figura 3-6:</b> Colores predominantes de pelaje de bovinos criollos Caqueteños y cruces con <i>B. indicus</i> y <i>B. taurus</i> . ....	97
<b>Figura 3-7:</b> Longitud, diámetro, densidad y peso de pelos de bovinos cruzados con mayor incidencia de <i>Bos taurus</i> o <i>Bos indicus</i> y de la raza criollo Caqueteño. ....	100
<b>Figura 3-8:</b> Temperatura superficial (°C) y frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto) en bovinos de la raza criollo Caqueteño, y tipos raciales <i>B. taurus</i> y <i>B. indicus</i> .....	101
<b>Figura 3-9:</b> Biplot de variables morfométricas del pelo y fisiológicas bovinos de la raza criollo Caqueteño y tipos raciales <i>B. taurus</i> y <i>B. indicus</i> .....	103
<b>Figura 3-10:</b> Dendograma y distancia euclídea de los valores de las variables morfométricas del pelo, frecuencia respiratoria y temperatura superficial de bovinos de la raza criollo Caqueteño, tipos raciales <i>B. taurus</i> y <i>B. indicus</i> .....	104
<b>Figura 3-11:</b> Caracterización de la secuenciación de los genes de la Prolactina (PRL) y su receptor (PRLR).....	106
<b>Figura 3-12:</b> Sitios polimórficos de PRL con relación a secuencias de aminoácidos.....	107



- Figura 3-13:** Sitios polimórficos de PRLR con relación a secuencias de aminoácidos. . 108
- Figura 3-14:** Relaciones filogenéticas del ganado criollo Caqueteño y animales con cruces raciales de mayor tendencia *B. taurus* o de mayor tendencia hacia *B. indicus* inferidas a partir de secuencias de nucleótidos de PRL y PRLR del genoma nuclear. .... 111
- Figura 4-1:** Animales de la raza criollo Caqueteño (A) y vacas doble propósito de mayor tendencia a *B. taurus* (B) y de mayor tendencia hacia *B. indicus* (C) ..... 140
- Figura 4-2:** Evaluación de variables ambientales durante el periodo de abril a Septiembre de 2018 en una región baja de trópico húmedo del piedemonte amazónico. .... 145
- Figura 4-3:** Evaluación de variables ambientales por meses en una región baja de trópico húmedo del piedemonte amazónico ..... 146
- Figura 4-4:** Evaluación de índices que se relacionan con el estrés calórico en Bovinos 148
- Figura 4-5:** Determinación de índices que estiman el estrés calórico en sistema de producción bovino de trópico bajo húmedo del piedemonte amazónico evaluado durante los días de lunes a jueves en los meses de abril a septiembre de 2018..... 150
- Figura 4-6:** Evaluación del comportamiento etológico determinando el pastoreo bajo el sol (pasol), pastoreo bajo la sombra (pasom), rumia bajo el sol (rusol), rumia bajo la sombra (rusom), descanso bajo el sol (rusol), descanso bajo la sombra (rusom) y beber (beber) durante los horas del día (7:00 am a 5:00 pm) de bovinos de la raza criollo Caqueteño y vacas cruzadas con mayor proporción de *Bos taurus* o *Bos indicus*. .... 153
- Figura 4-7:** Temperatura de la superficie del pelaje (°T) y frecuencia respiratoria de bovinos de la raza criollo Caqueteño y vacas multirraciales con mayor proporción de *Bos taurus* o *Bos indicus*. .... 154
- Figura 4-8:** Gráfico de estrella en la evaluación de las actividades etológicas entre los criollos Caqueteños, cruces multirraciales de tendencias hacia *Bos taurus* o *Bos indicus*. .... 162
- Figura 4-9:** Biplot de variables etológicas de bovinos de la raza criollo Caqueteño y tipos raciales *B. taurus* y *B. indicus*. .... 166

# Índice De Tablas

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 2-1:</b> Longitud, Diámetro y Densidad del pelo bovino.....	48
<b>Tabla 2-2:</b> Los cruces con mayor incidencia de razas descendientes del <i>Bos taurus</i> presenta mayor temperatura superficial (TS) .....	54
<b>Tabla 3-1:</b> Estimación de las concentraciones de ADN por espectrofotometría y curva de calibración de muestras obtenidas de boca, nariz y sangre de bovinos. ....	90
<b>Tabla 3-2:</b> Evaluación de la temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) e índice de temperatura humedad (ITH) de los meses de abril a septiembre en las horas del día de 7:00 am a 5:00 pm.....	95
<b>Tabla 3-3:</b> Medidas morfométricas del pelo de bovinos de cruces con mayor incidencia de <i>Bos taurus</i> o <i>Bos indicus</i> y de la raza criollo Caqueteño.....	97
<b>Tabla 3-4:</b> Horas del día de mayor temperatura ambiental (°C) y su incidencia en la frecuencia respiratoria (rpm) y temperatura superficial (°C) del animal .....	100
<b>Tabla 3-5:</b> Matriz de componentes principales de morfometría del pelo y variables fisiológicas de bovinos criollo Caqueteño, cruces raciales <i>B. taurus</i> y <i>B. indicus</i> .....	101
<b>Tabla 3-6:</b> Análisis de correlaciones de Pearson para las variables de morfometría del pelo y fisiológicas a la 1:00 pm. ....	104
<b>Tabla 3-7:</b> Asociación del polimorfismo del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) con variables morfométricas del pelo y fisiológicas evaluadas a la 1:00pm. ....	109
<b>Tabla 4-1:</b> Evaluación de la temperatura ambiente (TA), humedad relativa (HR), temperatura de bulbo húmedo (TBH), temperatura en globo negro (TGN), temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA), presión atmosférica (PA), punto de rocío (PR) y velocidad del viento (VV) de Abril a Septiembre. ....	142
<b>Tabla 4-2:</b> Índices relacionados con el estrés calórico: índice de calor (IC), índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), índice de temperatura humedad (ITH), índice de carga de calor húmeda y viento (ICC), índice de humedad en globo negro (IHGN), índice de temperatura humedad y viento (ITHV), índice límite de trabajo térmico (ILTT) e índice de	

enfriamiento por viento (IEV), evaluados de Lunes a Jueves durante los meses de Abril a Septiembre del 2018.....	145
<b>Tabla 4-3:</b> Matriz de componentes principales de las actividades de comportamiento etológico de bovinos criollo Caqueteño, tipos raciales <i>B. taurus</i> y <i>B. indicus</i> . .....	163
<b>Tabla 4-4:</b> Asociación de variables de comportamiento etológico pastoreo bajo sol (Pasol), pastoreo bajo sombra (Pasom), rumia bajo sol (Rusol), rumia bajo sombra (Rusom), descanso bajo sol (Desol), descanso bajo sombra (Desom), beber, temperatura superficial (TS) y frecuencia respiratoria (FR).....	166
<b>Tabla 4-5:</b> Matriz de correlaciones de variables fisiológica, etológicas, ambientales e índices de estrés calórico.....	168
ANEXO 1. Evaluación de las variables ambientales en las horas del día.....	171
ANEXO 2. Índices de estrés calórico en las horas del día. ....	174

## Lista de Símbolos y abreviaturas

ACSM	Colegio Americano de Medicina Deportiva
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza
B	Bebiendo
<i>B. taurus</i>	Bos taurus
CMS	Consumo de materia seca
Ca	Calcio
Dsol	Descanso con sol
Dsom	Descanso con sombra
ee	Error estándar
F	Forward
FR	Frecuencia respiratoria
GEI	Gases efecto invernadero
GWAS	Estudios de asociación de todo el genoma
HR	Humedad relativa
IC	índice de calor
ICC	Índice carga de calor
IEV	Índice de enfriamiento del viento
IHGN	Índice de humedad en globo negro
ILTT	Índice límite de trabajo térmico
ITGNH	índice de temperatura en globo negro húmedo.
ITH	Índice temperatura humedad
ITHV	Índice de temperatura humedad y viento
Kcal	Kilocalorias

LWSI	Índice de seguridad medioambiental para el ganado
µg	Micro gramo
µL	Micro litro
µm	Micro metro
NCBI	National Center for Biotechnology Information
P	Fosforo
PA	Presión atmosférica
PR	Punto de rocío
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
pH	Potencial de hidrógeno
PRL	Gen de la prolactina
PRLR	Gen receptor de la prolactina
Psol	Pastoreo con sol
Psom	Pastoreo con sombra
R	Reverse
Rsol	Rumia con sol
Rsom	Rumia con sombra
SDS	Dodecilsulfato sódico
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
TA	Temperatura ambiental
TBH	Temperatura de bulbo húmedo
TBHNA	Temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado
TGN	Temperatura en globo negro
TS	Temperatura superficial
VV	Velocidad del viento
WBGT	Wet Bulb Globe Temperature

## Introducción

El 85% de la producción de carne y leche del mundo proviene de los bovinos (Skot & Lipper, 2013); América ocupa el primer lugar en producción de carne y el segundo en leche (Cepal, 2017). Colombia tiene 22'622.972 de bovinos, el 39% (8'822.959) es de cría, el 20% (4'524.594) ceba, el 35% (7'918.040) es doble propósito, el 6% (1'357.378) es lechería especializada y el 1% son razas criollas, presenta baja capacidad de carga nacional 0,55 animales/ha<sup>-1</sup> y producción de leche de 4,37 kg.vaca<sup>-1</sup>/día<sup>-1</sup>, con 6.500 millones litros de leche/año, ocupando el puesto 22 en la producción mundial (Ica, 2021; Upra, 2020). Uno de los aspectos que contribuye a que se presenten bajos parámetros productivos son las altas temperaturas como lo reporta Arias *et al.*, (2008).

El presente trabajo se realizó en un sistema de producción del departamento del Caquetá de la Amazonía colombiana, el cual presenta 2.160.420 bovinos (Torrijos Rivera, 2020). La región se caracteriza por poseer zonas de lomerío de aspecto ondulado, dentro del ecosistema de bosque húmedo tropical (Holdridge, 2000). Con pluviosidad de 3.600 mm/año de precipitación, con temperatura media anual de 25,1°C; humedad relativa varía entre 79,5 y 88,6% (García Lozano *et al.*, 2002).

El aumento de la demanda de leche y carne causado por el crecimiento demográfico (Cepal, 2017), la demanda por el uso del suelo, el agua y el cambio climático son los retos de la producción bovina (Nardone *et al.*, 2010). El cambio climático puede ser causado por fenómenos naturales como períodos de ciclicidad que causa cercanía al sol, erupciones volcánicas, radiación producida por el sol, rozamiento de las capas tectónicas y circulación termohalina entre la atmósfera y el océano (Nwankwoala, 2015) o por aspectos causados por el hombre al emitir gases de efecto invernadero a la atmósfera (Griggs & Noguer, 2002); aumentando la temperatura ambiental, los niveles del mar y cambiando los patrones de lluvia (Solomon *et al.*, 2007). Debido al cambio climático se asume que el incremento en la temperatura ambiental puede llegar hasta 5,8 °C en el año 2100 (Neely *et al.*, 2009), afectando en los bovinos el comportamiento, la producción y la salud (Aggarwal & Upadhyay, 2013). Los efectos indirectos que afectan la salud de los animales están asociados con las alteraciones en las poblaciones microbianas del sistema digestivo de los

bovinos, la distribución de las enfermedades transmitidas por vectores, la escasez de alimentos y de agua (Nardone *et al.*, 2010).

Las bajas en las producciones de leche y carne causadas por el cambio climático, varían según las razas y cruces (Parra *et al.*, 2019). En Colombia las lecherías especializadas con la raza Holstein y el doble propósito obtenido con cruces de Gyr y Holstein, han relegado los genes de adaptación por enfatizarse en los productivos (Báez *et al.*, 2010). Debido al efecto del calentamiento global los caracteres de adaptación han tomado una importancia que antes no presentaban (Berman, 2011). Uno de los aspectos de mayor relevancia para la adaptación es el comportamiento etológico, el cual se relaciona con la capacidad de los animales de percibir los cambios ambientales por medio de los sentidos, a través de receptores especializados que les permiten captar las sensaciones climáticas y expresar el estrés calórico, el cual se manifiesta a temperaturas superiores a 23°C y humedades relativas mayores que 80% (Flamenbaum *et al.*, 1986).

El cambio climático altera la tasa de ingestión, respiración y transpiración, para mitigar el estrés calórico los animales buscan sitios frescos con corrientes de aire, agua y sombra (Gallardo *et al.*, 2005 y West, 2003). La aclimatación, el conjunto de cambios fisiológicos y metabólicos que permite contrarrestar el estrés calórico, es otra variable que cambia el comportamiento etológico (Armendano *et al.*, 2015). Este tipo de adaptación aumenta la vasodilatación periférica, el jadeo, la sudoración, la reducción en la ingestión, manifiesta también cambio en el metabolismo hídrico y eliminación de calor, con el fin de conservar la salud, la productividad y el comportamiento, estos procesos dependen de la hora del día y muestran diferencias entre los tipos raciales (Araúz *et al.*, 2010; Fonade e Ideam, 2013 y Romero *et al.*, 2009).

Las regiones tropicales por ser las más afectadas por el calentamiento, usan los cruces de *Bos indicus* con *Bos taurus* (Ordóñez, 2019), para aprovechar la adaptación a factores climáticos y la productividad de carne y leche (Scholtz & Theunissen, 2010) y el vigor híbrido o heterosis (Ramírez & Uribe, 2010).

En América existen otros tipos raciales conocidos como razas criollas, formadas a partir de animales *Bos taurus* traídos de la península ibérica y poseen más de 450 años de adaptación (Hernández et al., 2007). En Colombia este proceso inició con los vacunos que trajo Rodrigo de Bastidas en 1525 de la isla La Española (hoy República Dominicana y Haití) a Santa Marta (Barrera et al., 2006a). A la Amazonía colombiana los *Bos taurus* llegaron desde la república de Ecuador y del Departamento del Valle del Cauca; se considera que estos ejemplares pudieron haber originado la raza Criollo Caqueteño (Barrera, Martínez, et al., 2006b).

Los recursos zoogenéticos locales presentan ventajas comparativas (Scholtz & Theunissen, 2010), tales como buena producción en sistemas extensivos con ambientes climáticos hostiles, eficiencia reproductiva, longevidad, buena calidad de la carne, capacidad de soportar deficiencias en prácticas sanitarias y resistencia a ciertas enfermedades (Giovambattista et al., 2001; Miretti et al., 2001; Vásquez, 2005). Por estas razones en África han cobrado interés la conservación de los recursos zoo genéticos locales denominados razas indígenas, para utilizarlas en cruces como línea materna o puras (Scholtz & Theunissen, 2010).

Los bovinos criollos en América Latina y el Caribe son usados en producción de leche, carne y doble propósito, desde el nivel del mar hasta zonas alto Andinas (López *et al.*, 2001). Colombia posee las razas criollas sintéticas Velásquez y Lucerna y las criollas colombianas Romosinuano, Blanco Orejinegro, San Martinero, Casanareño, Costeño con Cuernos, Chino Santandereano, Hartón del Valle y el Caqueteño. Estas razas se consideran vulnerables por existir en el inventario nacional sólo 25000 animales (Anzola 2005). La raza criollo Caqueteño fue reportado por Barrera *et al.*, (2006b), con la característica de estar adaptada a condiciones ambientales y agroecológicas del Departamento de Caquetá en la Amazonía colombiana.

El criollo Caqueteño es una raza en vía de extinción con introgresión moderada de razas cebuinas. Su rusticidad le permite mantener un buen estado corporal en época de escasez de alimento y de baja calidad nutricional, presenta resistencia a enfermedades, expresa tolerancia al calor y a la humedad (Barrera et al., 2006b).



La evaluación del valor genético de nuevas razas actualmente se lleva a cabo utilizando técnicas moleculares que permitan determinar características productivas (Dhakshanamoorthy & Selvaraj, 2009), a través del análisis de genes específicos asociados con la calidad en leche y carne (Baena *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2005), resistencia a enfermedades o a condiciones ambientales (do Nascimento *et al.*, 2006; Giovambattista *et al.*, 2013 y Kulberg *et al.*, 2007). En la presente investigación se evaluó el polimorfismo en la secuencia de un fragmento del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) y se determinó su posible asociación con la respuesta al estrés calórico en los tres grupos raciales de bovinos estudiados. Para el logro de este objetivo se estandarizó la extracción de ADN genómico de alta calidad a partir de muestras de sangre periférica y mucosa bucal y de fosa nasal estableciendo las diferencias entre las tres técnicas.

La morfometría del pelo incide en la termorregulación de los bovinos, la longitud y la densidad varían según la raza y afectan la respuesta al estrés calórico (Maia *et al.*, 2003; Villalobos, 2012; Yoo, 2014). La longitud del pelo se clasifica en corto, medio, largo y muy largo (Botero, 2008) y se correlaciona con el nivel de afectación con el estrés térmico. De acuerdo con Botero, (2008), el pelo corto permite mayor pérdida de calor en las razas índicas y criollas. Los *Bos indicus* poseen pelo corto o mediano y los *B. taurus* largo o muy largo. Por esta razón en esta investigación se evaluaron las diferencias en estas características entre los tres tipos raciales estudiados.

Existen diversas variables fisiológicas tales como temperatura superficial (TS), rectal (TR), las frecuencias respiratoria (FR), cardíaca (FC), recuento de glóbulos blancos, proteínas totales, albúmina, glucemia, hematocrito, Ca y P que sirven para determinar la respuesta de los animales; las FR y TS por ser fáciles de medir e influenciadas por el tipo racial son variables a tener en cuenta en la evaluación del estrés calórico (Espinoza *et al.*, 2011).

Otro aspecto importante es determinar las variables climáticas temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) y velocidad del viento (VV) puesto que influyen en el estrés calórico de los animales (Arias *et al.*, 2008). La temperatura es la principal medida para estimar confort o estrés. Las temperaturas extremas han causado catástrofes productivas e incluso

la muerte de miles de animales, que se agrava con las altas HR, cuando se presentan TA mayores de 30°C. Estas condiciones ambientales reducen la capacidad de disipación de calor por la piel y el aparato respiratorio (Arias *et al.*, 2008 y Da Silva, 2006), afectando el comportamiento fisiológico y etológico en los animales (Arias *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2008 y Suárez *et al.*, 2012). La HR y la TA son variables indispensables para determinar el ITH. Adicionalmente, estas variables ayudan a interpretar como las variables de longitud, densidad, diámetro, peso del pelo, los polimorfismos de PRL y PRLR interfieren sobre las variables de temperatura superficial, frecuencia respiratoria, pastoreo, rumia y descanso en los animales.

Se evaluaron parámetros climáticos con el objetivo de estimar índices relacionados con el nivel de estrés calórico en los animales. como los índices de temperatura y humedad (ITH); calor (IC), temperatura del globo negro húmedo (ITGNH), carga de calor (ICC), temperatura humedad y viento (ITHV), límite de trabajo térmico (ILTT) y enfriamiento por el viento (IEV) (Arias *et al.*, 2008; Brake & Bates, 2002; Cony *et al.*, 2004; Sánchez & Reyes, 2016; Steadman, 1979 y Suárez *et al.*, 2012). Se encontró que en las condiciones ambientales observadas como temperatura ambiental de  $30,3 \pm 3,8$  °C, humedad relativa  $74,4 \pm 14,1$  %, velocidad del viento  $0,4 \pm 0,4$  m/s, los animales pueden presentar estrés calórico desde las horas de la mañana.

Al evaluar mecanismos de tolerancia al estrés calórico en bovinos es indispensable determinar aspectos morfométricos, fisiológicos, moleculares y etológicos. Por eso en la presente investigación se evaluaron variables de morfometría del pelo como longitud, diámetro, densidad y color del pelo; la temperatura superficial y frecuencia respiratoria como variables fisiológicas; el polimorfismo del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) como variables moleculares y el comportamiento de los animales en pastoreo como variables etológicas, con el objetivo de determinar la respuesta al estrés calórico en las horas del día de los bovinos criollos Caqueteño y cruces de *Bos taurus* y *Bos indicus*.

## Bibliografía

- Aggarwal, A., & Upadhyay, R. (2013). *Heat Stress and Animal Productivity*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-0879-2>
- Anzola, H. (2005). Conservación y utilización de las razas bovinas criollas y colombianas para el desarrollo rural sostenible. *Archivos de Zootecnia*, 54(206), 141–144.
- Araúz, E. E., Fuentes, A., & Mendez, N. (2010). Alteración diurna de la carga calórica corporal e interrelación de las temperaturas rectal y láctea en vacas cruzadas (6/8 *Bos taurus* x 2/8 *Bos indicus*), Pardo Suizo y Holstein bajo estrés calórico diurno durante la época seca en el clima tropical húmedo. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(11), 1–36.
- Arias, Mader, T., & Escobar, C. P. (2012). *Climatic factors affecting cattle performance in dairy and beef farms*.
- Arias, R. A., Mader, T. L., & Escobar, P. C. (2008). Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40(1), 7–22.
- Armendano, J. I., Odeón, A. C., Callejas, S. S., Echarte, L., & Odriozola, E. R. (2015). Estrés térmico y síndrome distérmico en bovinos para carne de la provincia de Buenos Aires. *9nas Jornadas Internacionales de Veterinaria Practica*.
- Baena, J. A., Ramos, Á. J., Gómez, C. J., & Gómez, D. E. (2013). Comparación de métodos de extracción de ADN en tejidos parafinados y utilidad para amplificación por PCR. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 172–179.
- Báez, F., Chávez, A., Hernández, H., & Villamediana, P. (2010). Evaluación de la capacidad de desarrollo in vitro de ovocitos bovinos provenientes de vacas con predominancia fenotípica *Bos taurus* y *Bos indicus*. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 20(3), 259–267.
- Barrera, G., Martínez, R., & Pérez, JE; Polanco, N y Ariza, F. (2006). Evaluación de la variabilidad genética en ganado Criollo Colombiano mediante 12 marcadores microsatélites. *Animal Genetic Resources Information*, 38, 35–45. <https://doi.org/10.1017/S1014233900002030>

- Berman, A. (2011). Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2147–2158.
- Botero, C. (2008). *Caracterización de la longitud del pelo en diferentes genotipos bovinos en el estado Zulia, Venezuela*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012.
- Brake, D. J., & Bates, G. P. (2002). Limiting metabolic rate (thermal work limit) as an index of thermal stress. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 17(3), 176–186.
- CEPAL, N. U. (2017). *Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia América Latina y el Caribe 2017-2018*.
- Cony, P., Casagrande, G., & Vergara, G. (2004). Cuantificación de un índice de estrés calórico para vacas lecheras en Anguil, provincia de La Pampa (Argentina). *Rev. Fac. Agronomía-UNLPam*, 15(1/2), 9–15.
- Da Silva, R. G. (2006). Weather and climate and animal production. *Update of the Guide to Agricultural Meteorological Practices*, 563–567.
- Dhakshanamoorthy, D., & Selvaraj, R. (2009). Extraction of genomic DNA from *Jatropha* sp. using modified CTAB method. *Rom J Biol Plant Biol*, 54, 117–125.
- Díaz, H., Alvarez, L. A., Muñoz, J., & Sanabria, P. A. (2005). *Variabilidad de los Genes de la Proteínas de la leche K-caseína, B-Lactoglobulina y A-Lactoalbumina en el Ganado Criollo Hartón del Valle Bos taurus*. Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia-Sede Palmira Maestría En ....
- do Nascimento, C. S., Machado, M. A., Martinez, M. L., Silva, M. V. G., Guimarães, M. F. M., Campos, A. L., Azevedo, A. L. S., Teodoro, R. L., Verneque, R. da S., & Guimarães, S. E. F. (2006). Association of the bovine major histocompatibility complex (BoLA) BoLA-DRB3 gene with fat and protein production and somatic cell score in Brazilian Gyr dairy cattle (*Bos indicus*). *Genetics and Molecular Biology*, 29(4), 641–647.
- Espinoza, J., Ortega, R., Palacios, A., & Guillén, A. (2011). Tolerancia al calor y humedad atmosférica de diferentes grupos raciales de ganado bovino. *Revista MVZ Córdoba*.
- Flamenbaum, I., Wolfenson, D., Mamen, M., & Berman, A. (1986). Cooling dairy cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system. *Journal of Dairy Science*, 69(12), 3140–3147.
- FONADE, F. financiero de proyectos de desarrollo, & IDEAM, I. de hidrología meteorología

- y estudios ambientales. (2013). Efectos del cambio climático en la producción y rendimiento de cultivos por sector. *Cambios Climáticos*, 0–49.
- Gallardo, M. R., Valtorta, S. E., Leva, P. E., Gaggiotti, M. C., Conti, G. A., & Gregoret, R. F. (2005). Diet and cooling interactions on physiological responses of grazing dairy cows, milk production and composition. *International Journal of Biometeorology*, 50(2), 90–95.
- García Lozano, J., Cipaguata Hernández, M., Gómez Mesa, J. E., & Gutiérrez Vanegas, A. J. (2002). *Descripción, espacialización y dinámica de los sistemas de producción agropecuaria en el área intervenida del departamento de Caquetá*. ((Doc. 2018). CORPOICA. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=bac.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mnfn=046277>
- Giovambattista, G., Ripoli, M. V., Peral-García, P., & Bouzat, J. L. (2001). Indigenous domestic breeds as reservoirs of genetic diversity: the Argentinean Creole cattle. *Animal Genetics*, 32(5), 240–247.
- Giovambattista, G., Takeshima, S., Ripoli, M. V., Matsumoto, Y., Franco, L. A. A., Saito, H., Onuma, M., & Aida, Y. (2013). Characterization of bovine MHC DRB3 diversity in Latin American Creole cattle breeds. *Gene*, 519(1), 150–158.
- Griggs, D. J., & Noguera, M. (2002). Climate change 2001: the scientific basis. Contribution of working group I to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Weather*, 57(8), 267–269.
- Hernández, D.Y., Álvarez, L. A. & Muñoz, J. E. (2014). Evaluación de la resistencia genética del ganado criollo Hartón del Valle al virus de la Leucosis Bovina en infección natural. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA*, 4, 3–5.
- Hernández, A., Cervantes, P., Salinas, V. M., García, R., Tejeda, A., Gallardo, F., & Álvarez, J. L. (2007). Respuesta al estrés por calor en la vaca criollo lechero tropical bajo un sistema de doble propósito en México. *Revista de Salud Animal*, 29(2), 85–90.
- Holdridge, L. R. (2000). *Ecología basada en zonas de vida* (IICA (ed.); Quinta Reimpresión, Issue 83). Instituto Interamericano de Cooperación Para la Agricultura. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=m3Vm2TCjM\\_MC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Holdridge,+LR.1976.Ecologia+basada+en+zonas+de+vida.San+José.+IICA.+95+pp](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=m3Vm2TCjM_MC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Holdridge,+LR.1976.Ecologia+basada+en+zonas+de+vida.San+José.+IICA.+95+pp)

.&ots=oObD3yYCyO&sig=wcuEHME7jfc-9uesF18QndHA1Kw#v=onepage&q&f=false

- ICA. (2021). *Censo Pecuario Nacional. Censo Bovino En Colombia*. <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018#:~:text=La poblaci3n bovina en el,4%25%2C respecto a 2020.>
- Kulberg, S., Heringstad, B., Guttersrud, O. A., & Olsaker, I. (2007). Study on the association of BoLA-DRB3. 2 alleles with clinical mastitis in Norwegian Red cows. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(4), 201–207.
- L3pez, A., Saldarriaga, O. A., Arango, A. E., Rugeles lopez, M. T., Zuluaga Tobon, F. N., Olivera A., M., Berm3dez, N. R., Bedoya B., G., & Ossa Londo3o, J. (2001). Ganado Blanco Orejinegro (BON): Una alternativa para la producci3n en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(2), 121–128.
- Maia, A. S. C., da Silva, R. G., & Bertipaglia, E. C. A. (2003). Haircoat traits in Holstein cows in tropical environments: a genetic and adaptative study. *Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science*, 32(4), 843–853.
- Miretti, M. M., Ferro, J. A., Lara, M. A., & Contel, E. P. B. (2001). Restriction fragment length polymorphism (RFLP) in exon 2 of the BoLA-DRB3 gene in South American cattle. *Biochemical Genetics*, 39(9–10), 311–324.
- Nardone, A., Ronchi, B., Lacetera, N., Ranieri, M. S., & Bernabucci, U. (2010). Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livestock Science*, 130(1–3), 57–69.
- Neely, C., Bunning, S., & Wilkes, A. (2009). *Review of evidence on drylands pastoral systems and climate change*. Citeseer.
- Nwankwoala, H. N. L. (2015). Causes of Climate and Environmental Changes: The Need for Environmental-Friendly Education Policy in Nigeria. *Journal of Education and Practice*, 6(30), 224–234.
- Ord3ñez V, J. A. (2019). Una revisi3n de los sistemas de apareamiento para el tr3pico. *Revista Digital Novasineria*, 3(1), 6–16.
- Parra, R. I., Maga3a, M. A., & Pi3eiro, A. T. (2019). Intensificaci3n sostenible de la ganader3a bovina tropical basada en recursos locales: alternativa de mitigaci3n ambiental para Am3rica Latina. *ITEA-Informaci3n T3cnica Econ3mica Agraria*, 115(4), 342–359. <https://doi.org/https://doi.org/10.12706/itea.2019.003>

- Pérez, E., Soca, M., Díaz, L., & Corzo, M. (2008). Comportamiento etológico de bovinos en sistemas silvopastoriles en Chiapas, México. *Pastos y Forrajes*, 31(2), 1.
- Ramírez, H. A., & Uribe, L. F. (2010). Heterosis: another alternative for bovine production systems. *Veterinaria y Zootecnia*, 4(1), 52–62.
- Romero, M., Córdova, G., & Hernández, E. (2009). Producción de Forraje Verde Hidropónico y su Aceptación en Ganado Lechero. *Acta Universitaria*, 19(2), 11–19.
- Sánchez, M. G. O., & Reyes, D. I. (2016). El Método LEST, Su Aplicación Y Evaluación En Las Prácticas Ergonómicas. *European Scientific Journal, ESJ*, 12(35).
- Scholtz, M. M., & Theunissen, A. (2010). The use of indigenous cattle in terminal cross-breeding to improve beef cattle production in Sub-Saharan Africa. *Animal Genetic Resources/Recursos Genéticos Animales/Recursos Genéticos Animales*, 46, 33–39.
- Skot, J., & Lipper, L. (2013). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Roma: FAO.
- Solomon, S., Manning, M., Marquis, M., & Qin, D. (2007). *Climate change 2007-the physical science basis: Working group I contribution to the fourth assessment report of the IPCC* (Vol. 4). Cambridge university press.
- Steadman, R. G. (1979). The assessment of sultriness. Part I: A temperature-humidity index based on human physiology and clothing science. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 18(7), 861–873.
- Suárez, E., Reza, S., Díaz, E., García, F., Pastrana, I., Cuadrado, H., & Espinosa, M. (2012). Efectos de las condiciones ambientales sobre el comportamiento ingestivo en bovinos de carne en un sistema intensivo en el Valle del Sinú. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2).
- Torrijos Rivera, R. (2020). *Cifras de Contexto Ganadero Caquetá* (Primera ed). Ed. Comité Departamental de Ganaderos del Caquetá. [https://issuu.com/rafaeltorrijos/docs/contexto\\_ganadero\\_caqueta\\_2020](https://issuu.com/rafaeltorrijos/docs/contexto_ganadero_caqueta_2020)
- UPRA. (2020). *Cadena Láctea colombiana, Análisis situacional*. [http://www.andi.com.co/Uploads/20200508\\_DT\\_AnalSitLecheCorta\\_AndreaGonzalez.pdf](http://www.andi.com.co/Uploads/20200508_DT_AnalSitLecheCorta_AndreaGonzalez.pdf)

- Villalobos, C. M. E. (2012). La raza, el pelo y la piel en función del bienestar animal. *Mundo Pecuario*, 8(1), 73–85.
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2131–2144.
- Yoo, M. (2014). *Hair-coat Characteristics of Cattle*. Cornell University.



# 1 .OBJETIVOS

## 1.1 Objetivo General

Comparar la respuesta al estrés calórico en bovinos criollos Caqueteños y cruces *Bos taurus*, *Bos indicus* en variables fisiológicas (frecuencia respiratoria y temperatura superficial) morfométricas del pelo (longitud, densidad, peso y diámetro del pelo) y etológicas (pastoreo, rumia, descanso).

## 1.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la longitud, densidad, peso y diámetro del pelo y su asociación sobre frecuencia respiratoria y temperatura superficial como indicadores de estrés calórico en tres tipos raciales.
- Validar la asociación entre mutaciones del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) sobre variables fisiológicas en tres grupos raciales.
- Determinar el comportamiento etológico en los tres tipos raciales y su asociación con variables ambientales e índices relacionados con el estrés calórico
- Validar la asociación entre mutaciones del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR), la longitud del pelo sobre variables de comportamiento en tres grupos raciales.

## 2 . Marco Teórico

### 2.1 Introducción

El cambio climático puede tener causas naturales (Nwankwoala, 2015) pero el proceso que se vive en la actualidad lo generó el ser humano (Griggs & Noguera, 2002), donde el uso excesivo de los combustibles fósiles ha incrementado la temperatura ambiental (Ciesla, 1996), afectando el comportamiento, salud y producción animal (Nienaber *et al.*, 1999), debido a que las altas temperaturas sacan a los bovinos de su zona de confort causándoles estrés calórico (Nardone *et al.*, 2010). Las investigaciones sobre sus consecuencias toman relevancia teniendo en cuenta que se prevé que para el año 2100 las temperaturas aumentarán hasta 5,8 °C (Neely *et al.*, 2009).

Entender los procesos fisiológicos y de comportamiento que activan los bovinos para contrarrestar el estrés calórico permite determinar el grado en que un individuo o una raza se ve afectado (Lacetera *et al.*, 2003); así mismo, la evaluación de los procesos de termorregulación sirve para plantear estrategias de manejo y adecuaciones, pero principalmente ayuda a determinar cuáles son las razas o cruces que mejor lo soportan (Hansen, 2004). Tener claridad sobre los tipos raciales que están menos afectados por el estrés calórico permitirá a los productores y a los investigadores plantear estrategias de mejoramiento genético enfocado hacia la adaptación a esta realidad de cambio climático (Parra *et al.*, 2019). La selección de los animales en el trópico bajo ha estado enfocada a la producción de leche utilizando machos o semen de razas y cruces de *B. taurus*, en vacadas *B. indicus* (Toledo *et al.*, 2015), otro proceso de mejoramiento que se ha desarrollado es el uso indiscriminado del *B. indicus*, mediante cruces absorbentes, estos procesos son los que históricamente ha causado la disminución de los inventarios de las razas criollas, que están adaptadas a las condiciones adversas de las regiones de trópico bajo, especialmente a las altas temperaturas (Barragán *et al.*, 2015a), como es el caso del criollo Caqueteño (Sanchez *et al.*, 2006).

El objetivo de esta revisión pretende reconocer distintos aspectos relacionado con el estrés calórico en bovinos, cambios en las variables ambientales debido a causas antropogénicas, índices climáticos usados, procesos fisiológicos y etológicos que desencadenan el estrés calórico, características morfométricas y adaptativas en los procesos de termorregulación y las bondades adaptativas del criollo Caqueteno.

## **2.2 Consecuencias del estrés calórico y los procesos termorreguladores en los bovinos**

Las regiones tropicales son las que presentan mayor producción pecuaria a nivel mundial, sin embargo se presentan dificultades para que los bovinos expresen su potencial, debido a que los factores climatológicos como la alta temperatura y humedad relativa, causan estrés calórico, afectan directamente el metabolismo y el sistema neuroendocrino debido a que el estrés determina la secreción de factor liberador de la hormona corticotropa por el hipotálamo, que estimula en la adenohipófisis la secreción de la hormona adrenocorticotropa, genera liberación de las hormonas secretadas por glándulas suprarrenales y adrenales, los cuales causa efectos negativos en la gametogénesis, pulsos hormonales, el celo, el ovocito, la fecundación, la implantación, el desarrollo embrionario (Castaño et al., 2014), repercuten en menor fertilidad, crecimiento y producción de leche (Lucy, 2001 y Pellecer, 2010). La alta temperatura y humedad de las regiones de trópico cálido sacan al animal de su estado de confort térmico, trastornando la capacidad para mantener su temperatura corporal (Barragán et al., 2015b).

Cuando las variables climáticas sobrepasan la capacidad termorreguladora del animal, lo colocan fuera de la zona de confort (Aggarwal & Upadhyay, 2013). Lo cual causa que los animales interactúen con las oscilaciones climáticas, afectando las respuestas fisiológicas, temperatura corporal, frecuencia respiratoria entre otras y el comportamiento etológico como consumo de materia seca, este proceso altera los requerimientos nutricionales, donde el agua y la energía son los más afectados (Arias *et al.*, 2008). La capacidad de respuesta depende entre otras cosas de las propiedades de la piel, del pelo, de la tasa de sudoración, capacidad respiratoria, aislamiento de tejidos, superficie expuesta por unidad de peso, relación entre perfiles endocrinos como la disminución de la acción de la hormona tiroides

que genera gastos energéticos (Castaño et al., 2014) y producción de calor metabólico (Esquivel, 2012).

Panadero (2010) reportó que los animales que son sometidos a estrés térmico activan los mecanismos de conducción, convección, radiación y evaporación para disipar el calor, si son insuficientes inician cambios fisiológicos como la reducción del consumo de materia seca y cambios metabólicos (secreción hormonal), estos procesos alteran el metabolismo hídrico, por el aumento en el consumo de agua, al incrementar pérdidas por sudor (177%), respiración (54%) y en la orina (25%) (R E McDowell, 1967). La respuesta del cuerpo para eliminar calor es activar los procesos fisiológicos de termorregulación, lo cual genera vasodilatación periférica, jadeo y sudoración (Izquierdo et al., 2016); si el proceso se extiende se reduce el consumo de alimento (Román Gay, 2014).

Cuando se produce un aumento de la temperatura ambiental a largo plazo el consumo de oxígeno se ve disminuido, indicando una reducción de la tasa metabólica (Kibler, 1960, 1962), de igual manera la disminución de la ingesta de materia seca es un esfuerzo del animal por minimizar la producción de calor metabólico, pero esto contribuye a la disminución de la producción de leche por estrés térmico (Rhoads et al., 2009; Wheelock et al., 2010). Ya que la actividad tiroidea se encuentra relacionada con la producción de calor metabólico (Yousef & Johnson, 1966), la menor producción de calor por estrés explica la menor actividad tiroidea (Tao et al., 2020).

Para disminuir los efectos del estrés calórico los bovinos ponen en funcionamiento procesos termorreguladores que tienen por objetivo llevar al animal a la zona de confort (Aggarwal & Upadhyay, 2013). El desarrollo de los procesos termorreguladores se apoyan en primera instancia del agua corporal, la cual ocupa el 60% - 70% de su estructura y participa en todos los procesos fisiológicos y bioquímicos; los animales pueden agotar las reservas de carbohidratos, lípidos y degradar hasta el 50% de su proteína estructural y continuar con vida, pero si pierde la décima parte del agua corporal es inminente la muerte, debido a que todos los procesos bioquímicos corporales se llevan a cabo bajo la presencia de soluciones líquidas, generando parámetros fisiológicos tales como concentración electrolítica, pH y temperatura; las características del agua le permite absorber el calor interno (exotérmico)

emitido por las reacciones enzimáticas, por eso el agua es un elemento trascendental en la pérdida de calor en el momento en que el animal presenta estrés calórico, esto lo realiza debido a que posee efecto ionizante, tensión superficial y calor de vaporización, procesos indispensables para el sostenimiento de la homeostásis y en particular la temperatura corporal (Willmer *et al.*, 2009).

El agua ayuda al animal a perder calor por medio de la transferencia de calor al hábitat, (Gil Restrepo, 2017). Los mecanismos de termorregulación de los animales donde participa el agua, determinan la temperatura corporal, balance hídrico y la concentración de solutos. Estos procesos regulan los consumos de alimento y agua, altera la tasa metabólica y la actividad física, los cuales están ligados al balance hídrico. Son sistemas altamente correlacionados y dependientes del agua, los cuales se llevan a cabo mediante procesos de ósmosis y difusión. El grado de adaptación del animal está relacionado con la eficiencia en estos procesos, debido a que determinan el flujo de calor desde adentro del animal hacia el hábitat (Collier & Gebremedhin, 2015).

Las causas por las que el estrés calórico genera pérdidas en la producción bovina empiezan cuando la TA alcanza los 25°C, puesto que se reduce la ingestión de materia seca y el accionar de las hormonas tiroideas (Hill *et al.*, 2006), que estimula la lipogénesis generando calor (Jaimes, 2016). Pero lo que activa realmente el estrés calórico, es la “temperatura efectiva”, que mide la temperatura resultante de la interacción de la TA y la HR identificado como el índice de temperatura humedad ITH que a niveles superiores de 72 disminuye la producción de leche (Collier & Zimbelman, 2007) y la concentración de sólidos en la leche (West, 2003) según el nivel de estrés (Gallardo *et al.*, 2008), En las regiones de trópico bajo húmedo los períodos de mayor estrés calórico afecta la producción del ganado doble propósito, haciéndole perder peso o disminuyendo la ganancia de peso; este fenómeno también es conocido como estrés nutricional, porque el animal no procesa la cantidad de alimento que necesita para sostener la producción (Romero *et al.*, 2017).

Un ambiente térmico alto es un factor adverso en vacas lecheras que afecta negativamente la producción de leche (Lucy, 2001; Berman, 2011 y Nardone *et al.*, 2010). Cedeño (2011), mostró una reducción en el consumo de materia seca (CMS) y de la producción de leche

cuando el índice de temperatura humedad (ITH) superó los 70 puntos. Estudios llevados a cabo en vacas lecheras en Georgia EUA, describen disminución en la producción de leche cuando el ITH supera 68 (Tao et al., 2020), reportan en Alemania en vacas Holstein que se encuentran al inicio de la lactancia disminución del 19,5% de la producción de leche con ITH de 76 (Lamp et al., 2015).

El incremento en la producción de leche aumenta la sensibilidad de los bovinos al estrés térmico y reduce el "umbral de temperatura" en la que se producen las pérdidas de leche (Berman, 2011); esto se presenta porque el aumento de la producción incrementa el calor metabólico (Kadzere *et al.*, 2002). La producción de calor generado por vacas en producción es mayor a las no lactantes, ya que las pérdidas en la producción de leche por efecto del estrés por calor están directamente relacionadas con los niveles de producción, debido a que la zona de neutralidad térmica cambia con el nivel de producción, por mayor consumo de alimento y metabolismo, lo que aumenta la producción de calor (Odeón & Romera, 2017). La disminución en la producción lechera por estrés calórico depende de la interacción de factores con la temperatura del aire (Nardone *et al.*, 2010). Las bajas en la producción se están agudizando debido a los cambios extremos del clima (Lucy, 2001 y Berman 2011).

La etapa de la lactancia es otro factor que afecta la respuesta al calor (Tao et al., 2020). En vacas de alta producción, Nardone et al., (2010) reportaron que en el pico de la curva de lactancia producían  $60 \text{ kg.día}^{-1}$  de leche y generaban  $44.171 \text{ kcal.día}^{-1}$  y al final de la lactancia producían  $20 \text{ kg.día}^{-1}$  y generaban  $25.782 \text{ kcal.día}^{-1}$ . Adicionalmente, la calidad de la leche también se ve afectada (Nardone *et al.*, 2010); cuando vacas lactantes son sometidas a diferentes niveles de ITH, se alteran los contenidos de proteína, grasa,  $\alpha$ S-caseína y  $\beta$ -caseína  $\kappa$ -caseína,  $\alpha$ -lactoalbúmina y  $\beta$ -lactoglobulina en la leche (Lacetera *et al.*, 2003).

Otro aspecto que afecta el estrés calórico es la eficiencia reproductiva, tal como lo demostró Lozano et al. (2020), los animales sin distrés térmico presentan mejores características reproductivas como tasa de preñez. En las regiones de trópico bajo húmedo los períodos

de mayor estrés calórico afectan el porcentaje de nacimientos de bovinos (Chaux *et al.*, 2013), este efecto disminuye en los animales cruzados (Araúz *et al.*, 2010).

El estrés calórico ya ha causado desastres, durante la ola de calor de 2006 en California, los productores lácteos perdieron más de \$1 billón en leche y animales; durante la década de 1990 la ola de calor intenso en Nebraska, provocó la muerte de ganado y pérdidas de rendimiento con costo de más de \$20 millones de dólares; en julio de 1995, una combinación de calor y humedad mortal con cielo despejado y sin viento causó la muerte de más de 3.700 bovinos, en trece condados del oeste de Iowa, dejando pérdidas estimadas en \$31 millones de dólares (Collier & Zimbelman, 2007). Estos ejemplos prevén un aumento de las pérdidas económicas en el futuro debido al calentamiento global, en los sistemas de producción ganadera intensiva y extensiva.

El Departamento de Caquetá se encuentra dentro de la zona tropical baja húmeda del piedemonte amazónico, según el índice de seguridad medioambiental para el ganado (livestock weather safety index LWSI) que categoriza al ITH que determina temperatura y humedad relativa (Theurer *et al.*, 2014), esta región constantemente se ubica en la escala de "ALERTA" debido a que su rango promedio de ITH es 71-78%, siendo los meses de noviembre a febrero los de mayor riesgo (Ríos *et al.*, 2013), las horas diurnas son las de mayor relevancia, debido a que genera mayores temperaturas por la radiación solar (Formación, 2007).

Los efectos negativos del cambio climático afectan a todos los rumiantes bovinos, ovinos, caprinos y bufalinos. En los tres últimos la capacidad de adaptación a ambientes calurosos es mayor, expresando pequeñas disminuciones en la producción de leche, por esta razón fueron menos evaluados. Los valores de ITH donde los pequeños rumiantes empiezan a sufrir estrés por calor es mayor que en los bovinos y varía entre las razas (Finocchiaro *et al.*, 2005). La radiación solar parece tener un efecto menor en la producción de leche de ovejas y cabras, pero un mayor efecto sobre el rendimiento de la caseína, la grasa y la firmeza del coágulo en la leche de ovejas de la raza Comisana del Mediterráneo (Sevi *et al.*, 2001).

## 2.3 Los sistemas de producción bovino y los tipos raciales presentes en el Departamento de Caquetá.

La ganadería caqueteña es de tipo extensiva y semiextensiva, está conformada principalmente por bovinos producto de cruces de *B. indicus* con *B. taurus* y un grupo 350 animales de la raza criollo Caqueteño (Barrera et al., 2006; Celis et al., 2019), con tendencia a la introducción de razas foráneas y modernas (Ossa et al., 2011). El hato ganadero actual del Departamento es 1.809.702 cabezas (Devia, 2014; Villa et al., 2015), con 2.130.925 hectáreas en pasturas (Niño et al., 2002 y Vivas, 1989).

Los sistemas de producción bovinos doble propósito usan animales producto de cruzamiento entre *B. taurus* y *B. indicus* (Gumucio et al., 2016); para entender la obtención masiva de los cruzamientos como el biotipo para los sistemas de producción doble propósito en las regiones de trópico húmedo bajo, es indispensable hacer un recuento sobre el origen de las razas puras usadas (Magaña et al., 2019).

Los *B. taurus*, se originaron en el norte europeo, su evolución se presentó en regiones templadas donde existían las estaciones, dio orígenes a las razas especializadas de leche y carne (Báez et al., 2010), cuando fue traído al trópico Americano la radiación solar directa (350 a 875 kcal/m<sup>2</sup>hr), temperatura ambiental (25 a 40 °C) y humedad relativa (50 a 95%) afectaron su comportamiento y el balance calórico (Araúz, 2017). Los *B. indicus* son de tipo cebú o del trópico asiático, su evolución se dio en latitudes de influencia tropical, al sur de Asia y en África, con forma brevilinea, con expresión de rendimiento de carne, poco precoces, más tardíos que los taurinos, con características fenotípicas y fisiológicas adecuadas para soportar las condiciones tropicales, con mayor rusticidad y menor especialización (Alarcón, 2017).

Los cruzamientos entre *B. taurus* y *B. indicus* se han masificado en el trópico americano, en búsqueda de obtener las mejores características de ambos a través del vigor híbrido o heterosis, es decir producir animales de características genéticas superiores, combinando las virtudes de sus padres (Baena & Halfter, 2008), con excelentes rendimientos y adaptados al trópico (Gamarra, 2004), sin embargo el cambio climático ha disminuido su



productividad limitando su impacto (Hammond *et al.*, 1996). El uso de estos cruces fue para establecer sistemas de producción doble propósito, influenciando el inventario nacional en 42,8% y el regional en 80% (Rojas *et al.*, 2011). No se puede atribuir los aportes positivos solo a estos cruces entre *B. taurus* y *B. indicus*, se debe analizar la adaptabilidad natural de las razas criollas y la transmisión de sus genes a su descendencia (Rosa Inés Parra *et al.*, 2021).

## 2.4 La raza Criolla Caqueteño.

Se reconocen en Colombia ocho razas: Hartón del Valle, Blanco Orejinegro, Costeño con Cuernos, Caqueteño, Romosinuano, chino Santandereano, Casanareño y San Martinero (Correal, 2004), algunas de estas razas se encuentran al borde de la extinción, por eliminación o por absorción de la raza Cebú y otras foráneas (Montoya *et al.*, 2009). Los criollos colombianos llevan un proceso de adaptación al trópico bajo colombiano, de más de 500 años (Bedoya *et al.*, 2001). Descienden del mestizaje entre los animales traídos por Cristóbal Colón en su segundo viaje (Primo, 1992). En 1525 pasaron al continente desde Republica Dominicana y Haití (Anzola, 2005).

El Criollo Caqueteño es una raza, según los análisis filogenéticos, se encontró uniformidad racial con introgresión moderada de las razas cebuinas, se presentan dos principales teorías sobre su origen, la primera describe que fueron animales que ingresaron por Ecuador y el Valle del Cauca; la segunda es de grupos proveniente de Venezuela que se extendieron hacia las provincias de San Martín y San Juan de Arama en los Llanos Orientales, luego con las provincias Caqueteñas de San Vicente del Caguán y Puerto Rico (Barrera *et al.*, 2006b).

Son animales adaptados, con buena fertilidad, natalidad, resistencia a enfermedades, tolerancia al calor, humedad y se adaptan a las adversas condiciones que le brinda el ambiente (Barrera *et al.*, 2006b). La introducción de razas exóticas de diversos orígenes para incrementar la productividad es lo que históricamente ha deslumbrado a los productores y ha permitido el ingreso continuo de razas foráneas, han logrado que algunas razas criollas se encuentren en vía de extinción (Rischkowsky & Pilling, 2010).

La región es reconocida por su potencial ganadero, enfocándose en el mejoramiento de ganado doble propósito (carne y leche), lo que llevado a la reducción del inventario de ganado criollo Caqueteño a tan solo 350 animales puros (Quijano *et al.*, 2015). Por lo cual es catalogado en estado crítico de extinción (Steane, 1992).

El criollo Caqueteño, se encuentra en departamento del Caquetá, el cual presenta unas condiciones climáticas adversas para el confort térmico de los animales debido su alta TA de 26°C y HR de 88% (IDEAM, 2021), las hembras, tienen sus mucosas sonrojadas en un 64,2% y los machos en un 66,7%, las vetas de las pezuñas en hembras es del 56,7% y en machos el 66,6%, tasa de natalidad de 79% (Torrijos, 2006). Se adapta fácilmente a las condiciones medioambientales y climáticas de la región, con volúmenes promedios de lluvia de 3793 ml/año y radiación solar de 1707 horas/año (Celis Parra *et al.*, 2020).

En la región predominan las razas Brahman, Gyr, Guzerat, cebú comercial y cruces donde intervienen la raza Holstein y Pardo Suizo. En los cruces entre *B. indicus* y *B. taurus* se han realizado investigaciones en sistemas de producción usando las razas Brahman, Nellore, Cebu, Pardo Suizo y los cruces con Pardo Suizo, en sistemas de producción de vacas de cría evaluando peso al nacer, al destete, edad al primer parto e intervalo entre partos (Mejía *et al.*, 2010); en cruces entre Holstein X Cebu y Pardo Suizo X Cebu para mejorar la producción de leche en sistemas doble propósito (Calderón *et al.*, 2016) han demostrado la eficiencia de los cruces, pero en la raza criollo Caqueteño son escasas las investigaciones. La falta de difusión de las características y cualidades del ganado Caqueteño lo han llevado a la disminución de sus ejemplares, al punto de ser una raza que se encuentra en nivel crítico de extinción (Sastre, 2004).

## 2.5 Genes relacionados con el estrés calórico

En la biología molecular existen los genes que son las unidades encargadas de definir la herencia genética (Corella & Ordovas, 2017). Hay genes que son capaces de definir varios fenotípicos o caracteres distintos y no relacionados, conocidos como efectos antagónicos pleiotrópicos (Littlejohn *et al.*, 2014). Se han reportado dos mutaciones que se expresan en cromosomas no sexuales (autosómicos), donde el alelo alterado es dominante con características antagónicas en los tres procesos biológicos de la vía de señalización de la prolactina (la lactancia, el desarrollo del cabello y la homeotermia), los cuales son rasgos evolutivos característicos que diferencian a los mamíferos de otras especies de vertebrados (Littlejohn *et al.*, 2014).

Dos de estas tres características distintivas de los mamíferos, el desarrollo del pelo corporal y la regulación homeotérmica de la temperatura corporal tienen vínculos fisiológicos, una de las funciones del pelo corporal es aislar al animal endotérmico (McKechnie & Wolf, 2019). La tercera característica (lactancia) se asocia con las dos anteriores y posee gran importancia productiva, ya que es desarrollada por la glándula mamaria y se encargan en segregar pequeñas cantidades de grasa a la leche (apocrina) (Oftedal & Dhouailly, 2013). Esta tercera característica desempeña funciones en el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria (mamogénesis), en la secreción de leche (galactopoyesis), la síntesis de leche (lactogénesis), convirtiéndolo en un gen fuerte para definir los rasgos lácteos (Bayil Oğuzkan & Bozkurt, 2019; J. B. Patel & Chauhan, 2017).

Otro rol que tiene el PRL es en el crecimiento del pelo (Grymowicz *et al.*, 2020). El gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) son los encargados de definir la longitud del pelo (Craven *et al.* 2001 y Littlejohn *et al.* 2014). Han reportado mutaciones en prolactina (PRL) y su receptor (PRLR), que tienen un impacto en la termorregulación y fenotipos de la morfología del pelo (Chang *et al.* 2013 y Littlejohn *et al.* 2014).

Los bovinos *Bos taurus* reportan tradicionalmente pelo largo lanoso, capas de grasa subcutánea más gruesas y tractos digestivos más grandes que puede generar calor, los *Bos indicus* en cambio son más adaptados al trópico, con pelaje corto, con grandes pliegues

de piel, que le permite un mayor flujo de calor del cuerpo a la piel y una tasa metabólica reducida, mientras que los cruces entre *B. taurus* y *B. indicus* presentan valores intermedios (Porto et al., 2018). Recientemente se reportó una única mutación en la prolactina (PRL) y otra en el receptor de prolactina (PRLR) que han tenido efecto genético en la longitud del pelo y en la estructura del pelaje del ganado vacuno (Littlejohn et al., 2014). En los *Bos taurus* se encontró en el PRL un síndrome genético espontáneo y dominante, que presenta fenotipos inusuales por la presencia de pelajes excesivamente largos, al igual que insuficiencia en la lactancia y disfunción termorreguladora (Littlejohn et al. 2014). Rastreado esta mutación para este síndrome identificaron una nueva mutación fenotípicamente recíproca en la misma vía molecular, definiendo las características termotolerantes de la raza de ganado Senepol, estos datos sugirieron que la mutación PRLR p.Leu462, o alguna otra variante desconocida, portada por el mismo haplotipo, fue responsable del fenotipo de la capa fina, que presentan una relación directa sobre la expresión de variables fisiológicas que ayudan en los procesos de termorregulación (Littlejohn et al. 2014).

En el organismo se presentan redes de genes que influyen células y tejidos en respuesta al calor ambiental, estas redes se activan a nivel intra y extracelular de manera coordinada con el metabolismo corporal, cuando los organismos se encuentran por fuera de la zona de confort térmico, este fenómeno se presenta cuando la temperatura en la superficie de la piel excede los 35°C (Collier et al., 2008). Lo cual genera que el animal empieza a almacenar calor y que incremente rápidamente la pérdida de calor por evaporación, en este momento se activa la red de genes la cual incluye: Activación de la transcripción del factor uno del estrés calórico (HSF1); incremento de la expresión de proteínas de estrés térmico (HSP), disminución de la expresión y síntesis de otras proteínas; incremento de la oxidación de la glucosa y los aminoácidos, la reducción del metabolismo de los ácidos grasos; la activación endocrina del sistema de respuesta al estrés; la activación inmune por vía extracelular del sistema excretor de HSP (Collier et al., 2008).

A las HSP les han determinado dos familias: proteasas y chaperonas, que tienen un papel fundamental en la eliminación de otras proteínas mal plegadas o alteradas durante su proceso de maduración, se han reportado una serie de polimorfismos en el gen HSP70 que además de predecir termotolerancia, se han vinculado con resistencia a enfermedades

como mastitis en la raza Holstein china (Xiong et al., 2013) y pueden influir en la resistencia al calor y posiblemente utilizarse como marcador molecular en la termorregulación (Badri et al., 2021). Las proteínas de choque térmico (HSPs), también conocidas como proteínas chaperonas, son un grupo de proteínas altamente conservadas, que se producen en organismos celulares expuestas al estrés, la expresión de ellas está regulada por genes específicos, cuya transcripción está dada por la interacción de los denominados factores de choque térmico (Roberts et al., 2010). Las HSP son conocidas como proteínas que participan en el ensamble adecuado de polipéptidos sin hacer parte de ellos, la denominación de chaperonas se liga a su función de colaborar en la formación de otras proteínas, evitando que se plieguen de forma incorrecta (Sánchez, 2007).

El gen HSP90ab1 se ha analizado en la raza Sahiwal, evidenciado una tolerancia relativa al estrés térmico, junto a la respuesta de la producción total de leche, las variaciones pueden inclinar hacia la selección y la cría para mejorar la tolerancia térmica en las vacas Sahiwal (Sailo et al., 2015).

El efecto del estrés calórico puede ser evaluado a través de la determinación de variables bioquímicas como los niveles de la enzima  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$ . Aslihan (2002), determinó que esta enzima se encuentra en todos los mamíferos y es la manifestación enzimática del funcionamiento de la bomba de sodio-potasio-ATPasa. Debido a que preserva el gradiente iónico a través de la membrana celular, el potencial de la membrana en la célula y su equilibrio osmótico, esta enzima es considerada adecuada para evaluar el funcionamiento celular. Morel et al. (1998) demostró que existe sensibilidad de la enzima  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$  al estrés oxidativo, mientras que Deb et al. (2015), dice que esto puede indicar la existencia de una correlación entre el estrés calórico y la  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$ . El estrés calórico y la elevada tasa metabólica incentiva la producción de radicales libre de oxígeno (RLO), que reaccionan con diferentes biomoléculas como son lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, produciendo daño celular (Raji et al 2015). Se sabe que la función de Na-K ATPasa está considerablemente disminuida en presencia de radicales libres como el OH (Liu et al., 2011; Mense et al., 1997; Wang et al., 2011), en un trabajo con vacas Holstein Chinas demostraron que la variación en la secuencia de las subunidades alpha 1 y beta 2 de los genes  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$  está relacionada con tolerancia al calor. Deb et al. (2015), determinó

que los genes de la familia beta ATPasa y el gen HSP70 a temperatura superiores de 37°C incrementan abruptamente su expresión.

La expresión de genes bajo estrés térmico puede explicar la adaptabilidad al calor de algunas razas autóctonas, el gen ATP1A1 en el locus T27008243C en la raza Sahiwal y el locus 27008223 en vacas Karan Fries, son pruebas tangibles que existen genotipos deseables que expresan mayor adaptabilidad genética al estrés por calor (Das et al., 2017).

## **2.6 Funciones de la prolactina en el estrés calórico**

La hormona prolactina es polivalente en términos de acciones biológicas, se sintetiza y secreta a partir de células especializadas de la glándula pituitaria anterior, hasta el momento se han documentado más de 100 efectos diferentes y distintos, tales como reproducción, osmorregulación, metabolismo, inmunorregulación, función cerebral y de comportamiento etológico (Horseman & Gregerson, 2014). Se encontró que la prolactina tiene conexión con la temperatura corporal mediante la exposición al calor, porque es una hormona multifuncional asociada con la TA que participa en actividades de reproducción, osmorregulación, metabolismo, inmunorregulación, función cerebral y comportamiento (Eltayeb et al., 2010).

La prolactina participa en procesos termorreguladores durante climas cálidos, los cuales pueden afectar la regulación de los fluidos corporales, manteniéndolos en sus niveles durante el calor, también puede controlar el ciclo de crecimiento del pelaje de los animales en las regiones donde se presentan las estaciones, dirigido a facilitar la pérdida del calor durante la época de verano (Bernichtein et al., 2010; Horseman & Gregerson, 2014). Todos estos procesos están asociados a la producción y emisión de calor; algunos resultados apuntan a una posible conexión entre la prolactina y la temperatura corporal central durante la exposición al calor (Alamer 2011).

Han reportado que los niveles de prolactina pueden afectarse principalmente por dos factores, la temperatura ambiente y el fotoperiodo, encontrándose que en las regiones

templadas la prolactina es más alta en verano que en el invierno (Curlewis. 1992). El principal aspecto que afecta su concentración es el aumento de temperatura ambiental, ejemplo: en vaquillas Holstein se puede triplicar los niveles de prolactina al elevar la TA de 18 a 32°C., debido a que el estrés calórico afecta la síntesis y secreción de la prolactina (Matteri et al., 1994). Uno de los aspectos de mayor importancia es que la prolactina está implicada en los procesos de aclimatación, este proceso homeotermico se asocia con la adaptación de varias funciones fisiológicas corporales que están conectadas con la temperatura térmica, como la termorregulación y el equilibrio de fluidos (Bernabucci et al., 2010).

Durante el estrés térmico los rumiantes responden de forma inmediata con aumento de la tasa de respiración, la disminución de la ingesta de alimento y el aumento de la ingesta de agua, estos procesos se agudizan en los animales de mayor producción por ser más susceptibles al estrés térmico, porque generan más calor metabólico (Alamer 2011). Los animales que tienen bajos niveles de prolactina aumentan la frecuencia respiratoria (Salab et al., 1995). Otro aspecto que causa el estrés calórico es la alteración del perfil hormonal, el cual se caracterizan por la disminución y aumento de las hormonas anabólicas y catabólicas respectivamente (Aggarwal & Upadhyay, 2013). El cambio inducido por el calor altera el metabolismo energético, lipídico y proteico post-absorción, deteriora la función hepática, provoca estrés oxidativo, coloca en peligro la respuesta inmunitaria y disminuye el rendimiento reproductivo (Bernabupei et al., 2010).

La hipersecreción de la prolactina por exposición al calor puede estar involucrada en la mejora de algunos mecanismos termorreguladores, posiblemente apoyando la defensa contra el calor o reduciendo su incremento (Alamer 2011). Una característica común de la prolactina puede ser su efecto sobre el transporte de solutos y agua a través de las membranas, controla la función de las glándulas sudoríparas, regula el transporte de iones y regula el movimiento de agua y solutos a través de la membrana plasmática, el cual es de crucial importancia para todas las células (Soos et al., 1993)

La Prolactina está involucrada en el flujo de agua y electrolitos en intestinos, riñón y glándula mamaria, mediante técnicas de inmunotinción y la prolactina controla la función de las

glándulas sudoríparas (Walker et al. 1989). Los animales supresores de Prolactina aumentan la frecuencia respiratoria durante el aumento de las temperaturas, esto es un intento por parte de los animales homeotermos de disipar calor aumentando la FR cuando la vía evaporativa se vuelve insuficiente (Sergent et al., 1988)

El estrés calórico induce alteraciones marcadas en la tasa de renovación de agua y sobre el metabolismo, lo cual genera un aumentan en las necesidades de agua, debido al incremento de las pérdidas de agua por evaporación durante las tensiones de calor (Alamer 2011). La prolactina también se asocia con el consumo de agua, debido a que ella durante el estrés calórico expande el compartimiento de líquido extracelular, adicionalmente disminuye la excreción renal de líquidos y electrolitos (Hormbin, 1980).

Otro mecanismo que se activa en los rumiantes que se encuentran con estrés calórico es mantener su equilibrio térmico, ajustando la cantidad de sangre que fluye por los vasos cutáneos por vasodilatación periférica, en conclusión, el calor se transporta del interior del cuerpo hacia las superficies corporales, seguidamente el calor se disipa de la piel mediante la perdida de agua por evaporación (Jmpapol et al., 2010).

La prolactina participa en la formación de pelajes lisos y delgados que contribuyen en la perdida de calor para disminuir la hipertermia durante la exposición al calor, también ayuda en la reducción significativa de la absorción de calor por la radiación solar, por eso los animales con pelos resbaladizos cortos experimenta menores temperaturas en condiciones de estrés calórico (Dikmen et 2008).

## **2.7 El pelaje y las medidas morfométricas del pelo como parámetros relacionados con el estrés calórico.**

Se han descrito varios factores que actúan en la pérdida de calor cuando el animal se encuentra en estrés térmico, tales como el color del pelaje y la piel, la longitud, la densidad, el diámetro y el peso del pelo, todos estos caracteres están regulados por el accionar de los genes (Botero, 2008; Tatis y Botero, 2005; Araúz, 2017; Curtis 1981 y West, 2003).



Las tonalidades del pelaje es un aspecto que actúan en los procesos de termorregulación en los animales puesto que entre más oscuro sea el color de la superficie tegumentaria menor será el grado de emisividad calórica (Araúz, 2017). El índice del calentamiento tegumentario en el ganado bovino, varía según el color del pelo entre 0,50; 0,65; 0,80 y 0,90 en pelajes blanco, pardo claro, rojo y negro, respectivamente (Curtis, 1981); esto indica que la cantidad de energía calórica retenida y acumulada en el tiempo de exposición en la superficie corporal de los bovinos cambia en función de la tonalidad del pelaje y la piel, el color del pelaje oscuro aumenta el calentamiento epidérmico con alteraciones fisiológicas (West 2003).

El pelo en los bovinos se clasifica según su longitud, Botero (2008) reporta que el pelo corto mide 3 mm o menos, medio de 3,1 a 5 mm, largo de 5,1 hasta 9 mm y muy largo más de 9 mm; esta característica ayuda a determinar el grado de afectación de las altas temperaturas ambientales sobre el estrés térmico; los *Bos indicus* se consideran de pelo corto o mediano y los *Bos taurus* de pelo largo o muy largo (Tabla 1-1). El pelo corto es una ventaja para los bovinos que se encuentran en zonas cálidas, debido a que los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas y sebáceas son de mayor tamaño al compararlo con aquellos que poseen pelos largos, estas glándulas excretan mayor cantidad de agua facilitando la pérdida de calor por los mecanismos de termorregulación por convección y evaporación, esto es propio en las razas índicas, en algunas taurinas criollas y el Senepol (Botero, 2008).

**Tabla 2-1:** Longitud, Diámetro y Densidad del pelo bovino.

RAZA	Morfometría del pelo			Fuente
	Longitud	Diámetro	Densidad	
Cebu	3,6			(R E McDowell,
Holstein	10 -15			(Bertipaglia et
Criollo	4,9 – 10.9			(Landaeta et al.,
Holstein	10,5 – 18,33	26	700 - 3600	(Gebremedhin &
Braford	4,13 – 26,5	41,2	319 - 4851	(R G Da Silva et
Brangus	20,8	41,2	867	Maia et al, 2003

## **2.8 Las variables ambientales y su relación con el estrés calórico en los bovinos.**

Las variables climáticas influyen de forma directa en el estrés calórico de los animales y para entender el accionar de ellas sobre el comportamiento etológico en los bovinos es importante conocer el rol de cada variable (Rashamol et al., 2018).

La temperatura ambiental es la cantidad de calor presente en una masa de aire sobre un lugar determinado (Epstein & Moran, 2013), generalmente es considerada como la principal medida térmica utilizada para estimar confort o estrés (Da Silva, 2006 y Peters & Slen, 1964). Las temperaturas extremas han causado catástrofes productivas e incluso la muerte de miles de animales (Arias et al., 2008; Hahn et al., 2003; Nienaber *et al.*, 1999). Las altas temperaturas decrecen la actividad de la glándula tiroides, afectan la motilidad y la tasa de pasaje de los alimentos, esta glándula produce las hormonas tiroxina y triyodotironina, encargadas de regular la termogénesis (Habeeb, 1992), regulan la tasa de respiración, pulso, sudoración, vasodilatación para perder calor a través de las vías y mantener el balance térmico (Silanikove, 2000).

La humedad relativa es definida como la cantidad de agua o vapor de agua que se encuentra en el aire, esta variable junto con la temperatura ambiental, la radiación solar y la velocidad del viento, son las que afectan el balance térmico (Arias *et al.*, 2008). La humedad relativa (HR) acentúa las condiciones adversas de las altas temperaturas, reduciendo la capacidad de disipación de calor tanto de la piel como del aparato respiratorio del animal (Salles *et al.*, 2016), el incremento de la temperatura y humedad relativa sacan al animal de su estado de confort térmico y activa los mecanismos de pérdida de calor buscando mantener la temperatura corporal en rangos normales (Vidal, 2010). afecta la efectividad de la evaporación y las condiciones homeotérmicas (Blackshaw & Blackshaw, 1994), a partir de los 30°C (Arias et al., 2012). Ocasionando efectos fisiológicos como aumento de transpiración y jadeo (Epstein & Moran, 2013).

La radiación solar es la energía emitida por el sol, expresada por medio de radiaciones electromagnéticas que tocan la superficie terrestre, estas radiaciones generan un espectro,

el cual puede ser medido por su frecuencia o por su longitud de onda, en donde estas establecen una relación inversa debido a que la radiación electromagnética se propaga a la misma velocidad por toda la superficie por igual (Barros & Troncoso, 2010). La pluviosidad definida como la cantidad de lluvia que cae en un lugar y periodo de tiempo determinado, esta variable influye en el estrés calórico debido al exceso de humedad que interfiere en los procesos de termorregulación (Blanco, 2009).

Dentro de la zona “termoneutral” para vacas lecheras (5 y 26°C) el bovino presenta mayor producción (Dash et al., 2016), cuando el animal presenta ausencia de confort térmico producido por una acumulación o pérdida excesiva de calor entra en estrés calórico (Mondelo *et al.*, 2004), el busca compensarse modificando su metabolismo, disminuyendo el consumo de materia seca buscando minimizar la producción de calor metabólico (termogénesis) para nivelar su temperatura y recuperar su confort (Cedeño, 2011), disminuye la producción (Chaux *et al.*, 2013).

## **2.9 Los Índices para determinar el estrés calórico.**

Existen otras variables ambientales de gran importancia para determinar el estrés calórico, son variables que sirven para indicar el nivel que afecta la temperatura ambiental a los animales (Aggarwal & Upadhyay, 2013). La temperatura en globo negro (TGN) es una medida indirecta de la carga de calor radiante del entorno obtenida con un termómetro instalado dentro de una esfera de cobre hueca pintada de negro mate, que permite inferir la sensación térmica de un animal (da Silva et al., 2019), presenta correlación con la temperatura corporal y frecuencia respiratoria (Souza, 2010), debido a que describe la interacción entre temperatura del bulbo seco, el movimiento del aire y el calor del ambiente (ASHRAE, 2017). También se presentan otras variables que son usadas para estimar índices relacionados con el estrés calórico, como son la temperatura del bulbo húmedo (TBH) y temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA) (T. Patel et al., 2013).

A partir de las variables climáticas se han generado índices que reflejan el nivel de estrés calórico en los animales siendo el más conocido el índice de temperatura y humedad (ITH) que usa la temperatura ambiental (TA) y la humedad relativa (HR) combinándolo en un solo

valor (Cony *et al.*, 2004; Kelly, 1971); es un índice importante debido a que de forma natural el aire tiene la capacidad de absorber agua y es influenciado por la TA y la HR (Sánchez & Reyes, 2016), es decir limita la pérdida de calor en los animales (Da Silva, 2006) cuando se encuentra un valor igual o superior a 72%, los animales por efecto del estrés calórico comienza a disminuir la producción (Villa *et al.*, 2015).

El ITH es uno de los indicadores más utilizados para estimar la carga de calor que reciben los animales (Thom, 1959), las dos variables climáticas involucradas en el cálculo de este índice son regularmente medidas en todas las estaciones meteorológicas, por lo tanto es posible estimar la carga de calor ambiental a que se ven sometidos los animales dentro de las zonas de influencia usando la ecuación de Cony *et al.*, (2004):

$$\text{ITH} = (0,8 \times \text{TA } (^{\circ}\text{C})) + (\text{HR } (\%)/100) \times (\text{TA } (^{\circ}\text{C}) - 14,4) + 46,4.$$

En la década del 70, se desarrolló el indicador de Seguridad Climática para Ganado (Livestock Weather Safety Index) como una manera práctica de categorizar el riesgo de estrés calórico en cuatro niveles: normal ( $\text{ITH} \leq 70\%$ ), alerta ( $71\% \geq \text{ITH} \leq 78\%$ ), peligro ( $79\% \geq \text{ITH} \leq 83\%$ ) y emergencia ( $\text{ITH} \geq 83\%$ ) (Arellano *et al.*, 2006). En las zonas cálidas los animales expresan estrés por calor cuando se presenta una temperatura crítica superior (TCS), generando incremento de las pérdidas por evaporación para mantener la homeotermia; generalmente se presenta cuando el Índice de Temperatura Humedad (ITH) se encuentra en 71 o superior (Carmona 2013), disminuyendo la producción lechera de forma lineal con el incremento de la temperatura (Cerqueira *et al.*, 2016).

Otro índice de estrés calórico es temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), se mide la temperatura a través de un termómetro de globo negro, cuyo bulbo está inserto en una esfera negra y el registro es indicador de la temperatura radiante, concepto similar a lo que puede ser la sensación térmica en los animales (Velazco & Rovira, 2012), es conocido internacionalmente como *Wet Bulb Globe Temperature* (WBGT) (Mahgoub *et al.*, 2020). Para su estimación se requieren las variable temperatura radiante, temperatura de bulbo húmedo, temperatura de bulbo seco, temperatura de globo y humedad relativa del aire (Moran *et al.*, 2001; Vargas, 2012)y

$$WBGT = 0.7 T_{bh} + 0.2 T_{gn} + 0.1 T_{bs}$$

T<sub>bh</sub>: temperatura en bulbo húmedo, T<sub>gn</sub>: Temperatura en globo negro y T<sub>bs</sub>: temperatura en bulbo seco

Según Gaughan et al. (2008), usando la temperatura de globo negro (TGN) se puede estimar la temperatura corporal, para estimar el estrés animal calculando el índice de carga de calor (ICC), utilizando las variables humedad relativa (HR), velocidad del viento (VV) (Suárez et al., 2012).

$$ICC_{TGN>25} = 8.62 + 0.3HR + 1.55 \cdot TGN - 0.5VV + \text{EXP}(-2.4 VV)$$

El índice de calor (IC) es una medida que se implementó para los seres humanos. Es una función de la temperatura ambiental (TA) y la humedad relativa (HR) y se ha sugerido como una medida alternativa de la carga de calor para el cuerpo humano (Kim et al., 2006). El IC determina en proporción a una medida de la transferencia evaporativa y radiante de calor entre un ser humano típico y el entorno (Kim et al., 2006), para el cálculo del índice de calor utiliza análisis de regresión múltiple propuesto por Rothfus & Headquarters (1990).

$$IC = -42.379 + 2.04901523 \cdot T + 10.14333127 \cdot H - 0.22475541 \cdot T \cdot H - (6.83783 \times 10^{-3})T^2 - (5.481717 \times 10^{-2})H^2 + (1.22874 \times 10^{-3})T^2 \cdot H + (8.5282 \times 10^{-4})T \cdot H^2 - (1.99 \times 10^{-6})T^2 \cdot H^2$$

Existe otro índice para determinar el estrés por calor que se ha desarrollado para seres humanos denominado límite de trabajo térmico (ILTT), se define como la tasa metabólica sostenible límite (o máxima) que las personas euhidratadas y aclimatadas pueden mantener en un entorno térmico específico, dentro de una temperatura corporal profunda segura (<38,20 ° C) y una tasa de sudoración (<1,2 kg / h<sup>-1</sup>) (Brake & Bates, 2002).

## 2.10 Cambios de las variables fisiológicas como respuesta al estrés calórico.

La pigmentación de la piel, la coloración del pelaje, y las medidas morfométricas del pelo afectan los mecanismos de termorregulación (McKechnie & Wolf, 2019). Una forma común de estimar el estrés calórico en animales es determinando variables fisiológicas, ellas

permiten estimar la adaptación a fenómenos de estrés calórico en los bovinos, las de mayor relevancia son la temperatura superficial (TS) y rectal (TR), la frecuencia respiratoria (FR) y cardíaca (FC) (Correa *et al.*, 2009; Santos, 2014, Saravia & Cruz, 2003). También existen y algunas determinaciones sanguíneas como recuento de glóbulos blancos, proteínas totales, albúmina, glucemia, hematocrito, calcio y fósforo (Lopez *et al.*, 2011) y por último han evaluado parámetros o biomarcadores para evaluar la respuesta de los animales al estrés, tales como el cortisol, volumen celular acumulado (VGA), la concentración de glucosa, la actividad de la enzima creatinfosfoquinasa (CK), las concentraciones de B-hidroxibutirato y lactato, (Romero *et al.*, 2011; Sporer *et al.*, 2008).

## **2.11 La temperatura superficial (TS) como variable de respuesta al estrés calórico.**

Collier & Zimbelman (2007) reportan que la TS externa capta mejor el microambiente más próximo al animal y varía dependiendo del color de la capa del pelo, debido a que está directamente relacionado con la cantidad de radiación solar absorbida, por eso cuando se evalúan animales que han estado expuestos a radiaciones solares directas, la TS es mayor en los pelajes de colores negros u oscuros que en colores blanco o claros (Echeverri *et al.*, 2018). El calor en los animales se transmite a lo largo de un gradiente de temperatura existente entre la temperatura superficial del animal y la del aire, cuando el animal está a la sombra o al sol la temperatura superficial es cercana a la temperatura del aire (Saravia & Cruz, 2003).

Silva & Campos (2011), encontraron que la variable TS superficial es sensible a los cambios en el pelaje, dentro del mismo animal se presentan diferencias significativas entre las zonas del pelaje negro y las de pelaje blanco. Lima *et al.* (2015), demostraron que la época del año (lluvia y sequía) afecta la TS, al evaluar dos tipos de cruces en distinta época del año encontraron que los animales Hol $\frac{1}{2}$ \*Gyr $\frac{1}{2}$  ( $35.8\pm 0.24^{\circ}\text{C}$ ), comparados con Hol $\frac{3}{4}$ \*Gyr $\frac{1}{4}$  ( $35.9\pm 0.17^{\circ}\text{C}$ ) no presentaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en época de lluvia, mientras en época seca las diferencias fueron significativas ( $p<0.05$ ) en los mismos cruce ( $35.5\pm 0.16$  y  $36.3\pm 0.51^{\circ}\text{C}$ , respectivamente). Otro aspecto que afecta la TS son los tipos de cruces entre animales de razas *B. taurus* y *B. indicus*, donde hay mayor incidencia de razas taurinas se incrementa la TS (tabla 1-2).

**Tabla 2-2:** Los cruces con mayor incidencia de razas descendientes del *Bos taurus* presenta mayor temperatura superficial (TS)

Cruce	TS (°C)	Desviación estándar
1/4 Holstein 3/4 Gyr	29.8	1,23
3/8 Holstein 5/8 Gyr	29.9	1,04
1/2 Holstein 1/2 Gyr	30.1	1.89
5/8 Holstein 3/8 Gyr	30.3	2.02
3/4 Holstein 1/4 Gyr	30.6	0.99
7/8 Holstein 1/8 Gyr	30.9	1.42

Fuente: Cruz *et al.* (2016).

Las temperaturas corporales han sido usadas de forma tradicional como variables para determinar el efecto del estrés calórico, la más utilizada es la temperatura rectal, pero es indispensable manipular al animal, generando valores incorrectos por el estrés causado. Otra forma es determinar la temperatura superficial, la cual es científicamente válida como predictor del estrés calórico (Giro *et al.*, 2019) y se elimina la manipulación mejorando el bienestar animal al utilizar cámaras termográficas, capturando imágenes que estiman la temperatura (Ribeiro *et al.*, 2016 y Santos, 2014).

La TS es una variable fisiológica que permite evaluar el grado de respuesta como mecanismo de termorregulación a las condiciones climáticas extremas (Aggarwal & Upadhyay, 2013). La temperatura superficial permite estimar el grado de estrés de los bovinos porque el calor se transmite a lo largo del gradiente de temperatura que existe entre la temperatura superficial del animal y la temperatura del aire, cuando el animal está a la sombra la temperatura superficial es cercana a la temperatura del aire, si está al sol, la temperatura superficial puede ser muy alta (Saravia & Cruz, 2003).

## 2.12 Frecuencia respiratoria (FR).

La frecuencia respiratoria (FR) es el número de veces que un animal inhala y exhala aire durante un minuto; en el bovino adulto oscila entre 10 y 30 respiraciones por minuto y en una becerro entre 15 y 40 (Barragán *et al.*, 2015). La FR es un buen indicador del nivel de estrés calórico que está sufriendo un animal debido a que existe una relación entre los parámetros climáticos y la frecuencia respiratoria de los animales (Correa *et al.*, 2009).

La FR tiene varios aspectos que la afectan tales como el tipo racial (Cedeño, 2011). La humedad relativa alta también la afecta puesto que crea un ambiente propicio para la propagación de patógenos y parásitos en los bovinos, dificultando la pérdida de calor por el tracto respiratorio y aumenta las respiraciones por minuto (Robert E McDowell, 1972). Las altas temperaturas en el medio ambiente y la velocidad del viento son factores que alteran la FR. Cuando los bovinos están en pastoreo a temperaturas ambientales superiores a 25°C, humedades relativas superiores al 60% y velocidades del viento inferiores a 1.5 m/s, se incrementa la FR (Suárez *et al.*, 2012). Lo cual demuestra que esta variable es apropiada para analizar el efecto del estrés calórico en los bovinos y su grado de sensibilidad permite estimar las diferencias entre razas (Espinoza *et al.*, 2011).

Cuando los parámetros climáticos aumentan generando estrés por calor en los animales, se reduce el consumo de alimentos, la producción de leche, se aumenta la TC y FR (Correa *et al.*, 2009). Se ha encontrado que los animales con pelaje predominantemente oscuro presentan mayor FR que los animales con pelajes color claro (Echeverri *et al.*, 2018); además este parámetro fisiológico es utilizado para estimar el estado de confort animal y la capacidad de adaptación a ambientes adversos (Cerqueira *et al.*, 2016). El incremento de la FR cuando el animal se encuentra con estrés calórico es para elevar la evaporación de agua que humedece la vía respiratoria y se ayudan buscando lugares frescos, aumentando el consumo de agua y bajando el consumo de alimento (Sanmiguel *et al.*, 2018).



## Bibliografía.

- Aggarwal, A., & Upadhyay, R. (2013). *Heat Stress and Animal Productivity*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-0879-2>
- Alarcón, N. S. (2017). *Búfalos: una alternativa de producción para el departamento Concordia* (p. 58).
- Anzola, H. J. (2005). Conservación y utilización de las razas bovinas criollas y colombianas para el desarrollo rural sostenible. *Archivos de Zootecnia*, 54(206–207), 141–144.
- Araúz, E. (2017). Influencia del color del pelaje sobre el comportamiento térmico corporal, cinética de la sobrecarga calórica y alteración cardiorrespiratoria circadiana em vacas lecheras cruzadas (6/8 Bos taurus x 2/8 Bos indicus) bajo estrés calórico em el trópico húmedo. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(7), 1–45.
- Araúz, E. E., Fuentes, A., & Mendez, N. (2010). Alteración diurna de la carga calórica corporal e interrelación de las temperaturas rectal y láctea en vacas cruzadas (6/8 Bos taurus x 2/8 Bos indicus), Pardo Suizo y Holstein bajo estrés calórico diurno durante la época seca en el clima tropical húmedo. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(11), 1–36.
- Arellano, S., Martínez, J., Romero, E., Briones, F., Domínguez, M., & De La Garza, F. (2006). Factores genético-ambientales que afectan el intervalo entre partos y días a primer parto en ganado de doble propósito en el norte de Veracruz. *Avances En Investigación Agropecuaria*, 10(1).
- Arias, Mader, T., & Escobar, C. P. (2012). *Climatic factors affecting cattle performance in dairy and beef farms*.
- Arias, R. A., Mader, T. L., & Escobar, P. C. (2008). Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40(1), 7–22.
- ASHRAE. (2017). *Handbook of Fundamentals* (9th Editio). W. Stephen Comstock.
- Aslihan. (2002). Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - ATPase: A Review. *Journal of Ankara Medical School*, 24(2), 73–82.
- Badri, T., Alsiddig, M., Lian, L., Cai, Y., & Wang, G. (2021). Single nucleotide polymorphisms

- in HSP70–1 gene associated with cellular heat tolerance in Chinese Holstein cows. *Animal Gene*, 20, 200114.
- Baena, M. L., & Halfter, G. (2008). Extinción de especies. *Extinción de Especies, En Capital Natural de México, Vol. I: Conocimiento Actual de La Biodiversidad. Conabio, I*, 263–282.
- Báez, F., Chávez, A., Hernández, H., & Villamediana, P. (2010). Evaluación de la capacidad de desarrollo in vitro de ovocitos bovinos provenientes de vacas con predominancia fenotípica bos taurus y bos indicus. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 20(3), 259–267.
- Barragán, W. A., Mahecha, L., & Cajas, Y. S. (2015a). Variables fisiológicas-metabólicas de estrés calórico en vacas bajo silvopastoreo y pradera sin árboles. *Agronomía Mesoamericana*, 26(2).
- Barragán, W. A., Mahecha, L., & Cajas, Y. S. (2015b). Variables fisiológicas-metabólicas de estrés calórico en vacas bajo silvopastoreo y pradera sin árboles. *Agronomía Mesoamericana*, 26(2), 211–223.
- Barrera, G., Martínez, R., & Perez, JE; Polanco, N y Ariza, F. (2006). Evaluación de la variabilidad genética en ganado Criollo Colombiano mediante 12 marcadores microsatélites. *Animal Genetic Resources Information*, 38, 35–45. <https://doi.org/10.1017/S1014233900002030>
- Barrera, G., Martínez, R., Torrijos, R. & Ramón, F. (2006). Caracterización molecular de una población de ganado Caqueteño y su relación filogenética con razas bovinas criollas colombianas. *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria, ISSN-e 0122-8706, Vol. 7, Nº. 1, 2006, Págs. 33-41, 7(1)*, 33–41.
- Barros, J. G., & Troncoso, A. Y. (2010). *Atlas climatológico del Ecuador*. QUITO/EPN/2010.
- Bayıl Oğuzkan, S., & Bozkurt, A. S. (2019). A Study on the Effect of Prolactin Gene Variants on Milk Production Traits of Holstein Cattle. *Russian Journal of Genetics*, 55(4), 480–486. <https://doi.org/10.1134/S1022795419040082>
- Bedoya, G., Carvajal, L. G., Bermúdez, N. R., Moreno, F. L., Márquez, M. E., Davies, S., Derr, J., Ossa, J. E., & Ruiz, A. (2001). Estructura molecular y poblacional del ganado criollo Colombiano (GCC). *Rev Col Cienc Pec*, 14(2).
- Berman, A. (2011). Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle

- productivity in warm climates? *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2147–2158.
- Bernabucci, U., Lacetera, N., Baumgard, L. H., Rhoads, R. P., Ronchi, B., & Nardone, A. (2010). Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal*, 4(7), 1167–1183. <https://doi.org/DOI: 10.1017/S175173111000090X>
- Bernichtein, S., Touraine, P., & Goffin, V. (2010). New concepts in prolactin biology. *The Journal of Endocrinology*, 206(1), 1–11. <https://doi.org/10.1677/joe-10-0069>
- Bertipaglia, E. C. A., Silva, R. G., & Maia, A. S. C. (2005). Fertility and hair coat characteristics of Holstein cows in a tropical environment. *Animal Reproduction (AR)*, 2(3), 187–194.
- Blackshaw, J. K., & Blackshaw, A. W. (1994). Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 34(2), 285–295.
- Blanco, R. (2009). *Momento actual del estrés calórico. Docente de la Universidad Comunera*.
- Botero, C. (2008). *Caracterización de la longitud del pelo en diferentes genotipos bovinos en el estado Zulia, Venezuela*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012.
- Brake, D. J., & Bates, G. P. (2002). Limiting metabolic rate (thermal work limit) as an index of thermal stress. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 17(3), 176–186.
- Calderón, R., Calderón-Robles, R. C., Ríos-Utrera, Á., Montaña-Bermúdez, M., Lagunes-Lagunes, J., & Vega-Murillo, V. E. (2016). Analisis productivo y reproductivo de vacas Bos taurus x Bos indicus de doble proposito en clima subtropical humedo. *Revista Científica*, 26(4), 239–246.
- Castaño, F. A., Rugeles, C. C., Betancur, C. A., & Ramirez-López, C. J. (2014). Impact of heat stress on reproductive activity in cattle and considerations to mitigate its effects on reproduction. *Biosalud*, 13(2), 84–94. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95502014000200007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502014000200007)
- Cedeño, A. J. R. (2011). Efecto Del Estres Calorico En El Bienestar Animal, Una Revision En Tiempo De Cambio Climatico. *Espanciencia*, 2(82), 15–25.
- Celis, G., López, R., Tovar, G., García, A., & García, J. (2019). Ovarian Follicular Dynamics

- in Caqueteño Creole Cattle Breed at the Colombian Amazon Piedmont. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 14(2), 101–110.
- Celis Parra, G. A., Chinguad Taramuel, L. G., & Garcia Bustos, J. J. (2020). Evaluation of the productive characteristics of the Caqueteño Creole cattle breed. *Tropical Animal Health and Production*, 52(6), 3241–3250. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02350-2>
- Cerqueira, J., Araújo, J. P., Blanco, I., Cantalapiedra, J., Silvestre, M. A., & Silva, S. R. (2016). Predicción de estrés térmico en vacas lecheras mediante indicadores ambientales y fisiológicos. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 357–364.
- Chang, C., Lee, S. O., Wang, R.-S., Yeh, S., & Chang, T.-M. (2013). Androgen receptor (AR) physiological roles in male and female reproductive systems: lessons learned from AR-knockout mice lacking AR in selective cells. *Biology of Reproduction*, 89(1), 21.
- Chaux, M., Laveriano, A. L. G., Pimentel, C. C. R., Orjuela, J. A., & Hernández, A. F. V. (2013). Determinación de la incidencia de estrés calórico en número de nacimientos en bovinos doble propósito del departamento del Caquetá. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 14(7).
- Ciesla, W. M. (1996). *Cambio climático bosques y ordenación forestal: Una visión de conjunto* (Vol. 126). Food & Agriculture Org.
- Collier, R J, Collier, J. L., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2008). Invited Review: Genes Involved in the Bovine Heat Stress Response. *Journal of Dairy Science*, 91(2), 445–454. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2007-0540>
- Collier, Robert J, & Gebremedhin, K. G. (2015). Thermal biology of domestic animals. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 3(1), 513–532.
- Collier, Robert J, & Zimbelman, R. B. (2007). Heat stress effects on cattle: What we know and what we don't know. *22nd Annual Southwest Nutrition & Management Conference*, 76–83.
- Cony, P., Casagrande, G., & Vergara, G. (2004). Cuantificación de un índice de estrés calórico para vacas lecheras en Anguil, provincia de La Pampa (Argentina). *Rev. Fac. Agronomía-UNLPam*, 15(1/2), 9–15.
- Corella, D., & Ordovas, J. M. (2017). Conceptos básicos en biología molecular relacionados

- con la genética y la epigenética. *Revista Española de Cardiología*, 70(9), 744–753.
- Correa, A., Santos, G. des, Avendaño, L., Rivera, F., Alvarez, D., Ardon, F., Diaz, R., & Collier, R. (2009). Enfriamiento artificial y tasa de concepción de vaquillas Holstein con estrés térmico. *Archivos de Zootecnia*, 58(222), 231–239.
- Correal, G. M. (2004). POBLACIONES ACTUALES Y ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACIÓN DE LOS BOVINOS CRIOLLOS Y COLOMBIANOS. // *FORO NACIONAL*, 112.
- Craven, A. J., Ormandy, C. J., Robertson, F. G., Wilkins, R. J., Kelly, P. A., Nixon, A. J., & Pearson, A. J. (2001). Prolactin signaling influences the timing mechanism of the hair follicle: analysis of hair growth cycles in prolactin receptor knockout mice. *Endocrinology*, 142(6), 2533–2539.
- Cruz, P. F. F., Monteiro, C. P., Guimarães, E. C., Antunes, R. C., & de Mattos Nascimento, M. R. B. (2016). Physiological parameters, hair coat morphological characteristics and temperature gradients in holstein-gyr crossbred cows. *Bioscience Journal*, 32(2).
- Curtis, E. (1981). Psychometric approach to determine heat stress in animal production. *Environmental Management in Agriculture*.
- Da Silva, R G, La Scala Jr, N., & Tonhati, H. (2003). Radiative properties of the skin and haircoat of cattle and other animals. *Transactions of the ASAE*, 46(3), 913.
- Da Silva, Roberto Gomes. (2006). Weather and climate and animal production. *Update of the Guide to Agricultural Meteorological Practices*, 563–567.
- da Silva, T. G. F., Santos, G. C. L., Duarte, A. M. C., Turco, S. H. N., Cruz Neto, J. F. da, Jardim, A. M. da R. F., & Dos Santos, T. S. (2019). Black globe temperature from meteorological data and a bioclimatic analysis of the Brazilian Northeast for Saanen goats. *Journal of Thermal Biology*, 85, 102408. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.102408>
- Das, R., Gupta, I. D., Verma, A., Singh, S., Chaudhari, M. V., Sailo, L., Verma, N., & Kumar, R. (2017). Single nucleotide polymorphisms in ATP1A1 gene and their association with thermotolerance traits in Sahiwal and Karan Fries cattle. *Indian Journal of Animal Research*, 51(1), 70–74.
- Dash, S., Chakravarty, A. K., Singh, A., Upadhyay, A., Singh, M., & Yousuf, S. (2016). Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review.

*Veterinary World*, 9(3), 235–244. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.235-244>

- Deb, R., Sajjanar, B., Singh, U., Alex, R., Raja, T. V., Alyethodi, R. R., Kumar, S., Sengar, G., Sharma, S., Singh, R., & Prakash, B. (2015). Understanding the mechanisms of ATPase beta family genes for cellular thermotolerance in crossbred bulls. *International Journal of Biometeorology*, 59(12), 1783–1789. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-0986-x>
- Devia, F. (2014). *Revisión y análisis de la fiebre aftosa bovina en el Caquetá 2006-2014*.
- Echeverri, D. M., Galeano, L. F., Ramírez, J. P., Cerón, M. F., & Márquez, S. M. (2018). Efecto de la temperatura ambiente en la temperatura superficial de zonas negras y blancas del pelaje de un hato de vacas holstein en el departamento de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(36), 97–107.
- Epstein, Y., & Moran, D. S. (2013). Extremes of Temperature and Hydration. In J. S. Keystone, D. O. Freedman, P. E. Kozarsky, B. A. Connor, & H. D. B. T.-T. M. (Third E. Nothdurft (Eds.), *Travel Medicine* (pp. 381–390). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-1076-8.00041-7>
- Espinoza, V. J., Ricardo, P., Palacios, E., & Guillén, T. (2011). Tolerancia al calor y humedad atmosférica de diferentes grupos raciales de ganado bovino. *Revista MVZ Cordoba*, 16(1), 2302–2309.
- Esquivel, C. M. (2012). La raza, el pelo y la piel en función del bienestar animal. *Mundo Pecuario*, 8(1), 73–85.
- Finocchiaro, R., Van Kaam, J., Portolano, B., & Misztal, I. (2005). Effect of heat stress on production of Mediterranean dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 88(5), 1855–1864.
- Formación, E. (2007). *Energía solar fotovoltaica*. FC Editorial.
- Freire, M. I. (2016). *Evaluación de parámetros productivos y reproductivos en ganaderías bovinas de la provincia de Chimborazo afiliadas a la Asociación Holstein Friesian del Ecuador*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Gallardo, M. R., Valtorta, S. E., Leva, P. E., Gaggiotti, M. C., Conti, G. a, & Gregoret, R. F. (2008). Interacciones de dieta y refrigeración sobre respuestas fisiológicas y producción y composición de la leche de vacas lecheras en pastoreo. *28 Congreso Argentino de Producción Animal, Dc*, 1–6.

- Gamarra, J. (2004). Eficiencia técnica relativa de la ganadería doble propósito en la Costa Caribe. *Documentos de Trabajo Sobre Economía Regional*, 53.
- García, B., & Espinosa, M. A. P. (2010). *Informe sobre las ciencias sociales en el mundolas brechas del conocimiento*.
- Gaughan, J. B., Mader, T. L., Holt, S. M., & Lisle, A. (2008). A new heat load index for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 86(1), 226–234.
- Gebremedhin, K. G., & Porter, W. P. (1984). Heat Flow Through Pelage of Calves A Sensitivity Analysis. *Transactions of the ASAE*, 27(4), 1140–1143.
- Gil Restrepo, E. (n.d.). *Evaluación del confort térmico en bovinos en un sistema de lechería especializada del bosque húmedo montano bajo*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín.
- Giro, A., Pezzopane, J. R. M., Barioni Junior, W., Pedroso, A. de F., Lemes, A. P., Botta, D., Romanello, N., Barreto, A. do N., & Garcia, A. R. (2019). Behavior and body surface temperature of beef cattle in integrated crop-livestock systems with or without tree shading. *Science of The Total Environment*, 684, 587–596. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.377>
- Grymowicz, M., Rudnicka, E., Podfigurna, A., Napierala, P., Smolarczyk, R., Smolarczyk, K., & Meczekalski, B. (2020). Hormonal Effects on Hair Follicles. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 15). <https://doi.org/10.3390/ijms21155342>
- Gumucio, T., Mora Benard, M. A., Twyman, J., & Ceballos, H. (2016). *Género en la ganadería: Consideraciones iniciales para la incorporación de una perspectiva de género en la investigación de la ganadería en Colombia y Costa Rica*.
- Habeeb, A. A. (1992). Heat stress. *Farm Animals and the Environment*.
- Hahn, G. L., Mader, T. L., & Eigenberg, R. A. (2003). Perspective on development of thermal indices for animal studies and management. *EAAP Technic Ser*, 7, 31–44.
- Hammond, A. C., Olson, T. A., Chase Jr, C. C., Bowers, E. J., Randel, R. D., Murphy, C. N., Vogt, D. W., & Tewolde, A. (1996). Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano, compared with Brahman, Angus, and Hereford cattle in Florida. *Journal of Animal Science*, 74(2), 295–303.

- Hansen, P. J. (2004). Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science*, 82, 349–360.
- Hill, R. W., Wyse, G. A., & Anderson, M. (2006). *Fisiología animal*. Ed. Médica Panamericana.
- Horseman, N. D., & Gregerson, K. A. (2014). Prolactin actions. *Journal of Molecular Endocrinology*, 52(1), R95–R106. <https://doi.org/10.1530/JME-13-0220>
- IDEAM. (2021). [www.IDEAM.gov.co](http://www.ideam.gov.co). BOLETÍN CLIMATOLÓGICO MENSUAL. [http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/climatologico-mensual?p\\_p\\_id=110\\_INSTANCE\\_xYvIPc4uxk1Y&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=2&\\_110\\_INSTANCE\\_xYvIPc4uxk1Y\\_struts\\_action=%2Fdocument\\_library\\_display%2Fvie](http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/climatologico-mensual?p_p_id=110_INSTANCE_xYvIPc4uxk1Y&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=2&_110_INSTANCE_xYvIPc4uxk1Y_struts_action=%2Fdocument_library_display%2Fvie)
- Izquierdo, C. A., Reyes, I. A. E., Lang, R. C. G., Liera, G. J. E., Castro, I. J. F., Mancera, V. E. A., Mosqueda, J. M. L., Vázquez, G. A., Arroyo, C. G., & Pérez, O. J. (2016). CONSEQUENCES OF HEAT STRESS ON REPRODUCTION OF CATTLE. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(1), 89.
- Jaimes, L. (2016). XXVI Reunión Internacional Sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos. *EFFECTOS DEL ESTRÉS TÉRMICO SOBRE EL METABOLISMO ENERGÉTICO: ASPECTOS MOLECULARES*, 32–36.
- 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.
- Kelly, C. F. (1971). Bioclimatic factors and their measurement. *A Guide to Environmental Research on Animals*, 77.
- Kibler, H. H. (1960). Oxygen consumption in cattle in relation to rate of increase in environmental temperature. *Nature*, 186(4729), 972–973.
- Kibler, H. H. (1962). Environmental physiology and shelter engineering LXI: energy metabolism and related thermoregulatory reactions to thermal stress in 50 and 80 acclimated dairy heifers. *Missouri Agric Exp Stn Res Bull*, 793, 1–33.
- Kim, H., Ha, J.-S., & Park, J. (2006). High temperature, heat index, and mortality in 6 major cities in South Korea. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 61(6), 265–270.



- Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi, B., & Nardone, A. (2003). Physiological and productive consequences of heat stress. The case of dairy ruminants. *Proceedings of the Symposium on Interaction between Climate and Animal Production: EAAP Technical Series*, 7, 45–60.
- Lamp, O., Derno, M., Otten, W., Mielenz, M., Nürnberg, G., & Kuhla, B. (2015). Metabolic Heat Stress Adaption in Transition Cows: Differences in Macronutrient Oxidation between Late-Gestating and Early-Lactating German Holstein Dairy Cows. *PLOS ONE*, 10(5), e0125264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125264>
- Landaeta-Hernández, A., Zambrano-Nava, S., Hernández-Fonseca, J. P., Godoy, R., Calles, M., Irigorri, J. L., Añez, L., Polanco, M., Montero-Urdaneta, M., & Olson, T. (2011). Variability of hair coat and skin traits as related to adaptation in Criollo Limonero cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 43(3), 657–663.
- Lima, A. N., Feitosa, J. V., Montezuma, P. A., de Souza, P. T., & de Araújo, A. A. (2015). Hormonal profiles, physiological parameters, and productive and reproductive performances of Girolando cows in the state of Ceará-Brazil. *International Journal of Biometeorology*, 59(2), 231–236.
- Littlejohn, M. D., Henty, K. M., Tiplady, K., Johnson, T., Harland, C., Lopdell, T., Sherlock, R. G., Li, W., Lukefahr, S. D., Shanks, B. C., Garrick, D. J., Snell, R. G., Spelman, R. J., & Davis, S. R. (2014). Functionally reciprocal mutations of the prolactin signalling pathway define hairy and slick cattle. *Nature Communications*, 5, 5861.
- Liu, Y., Li, D., Li, H., Zhou, X., & Wang, G. (2011). A novel SNP of the ATP1A1 gene is associated with heat tolerance traits in dairy cows. *Molecular Biology Reports*, 38(1), 83–88. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0080-8>
- Lopez, P., Martínez, R., Genero, E., Abbiati, N., & Scodellaro, M. (2011). Variables Fisiológicas en Hembras Bovinas Criollas Patagónicas y Aberdeen Angus. *Veterinaria Argentina*, 28(279), 63–69.
- Lozano, R. R., Aréchiga-Flores, C. F., López-Carlos, M. A., Cortés-Vidauri, Z., Rincón-Delgado, M., Carrera-Chávez, J. M., Macías-Cruz, U., & Hernández-Cerón, J. (2020). Efecto del reemplazo folicular (GnRH) y de somatotropina bovina (bST) sobre la fertilidad de vacas lecheras expuestas a estrés calórico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(3), 738–756.

- Lucy, M. C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science*, *84*(6), 1277–1293.
- Magaña, J. G., Segura, J. C., Aké, J. R., Montes, R. C., & Estrada, R. J. (2019). Importancia de los Recursos Genéticos Animales para la Eficiencia de los Sistemas de Producción Bovina en el Trópico Mexicano. In *AGROECOSISTEMAS TROPICALES: CONSERVACIÓN DE RECURSOS NATURALES Y SEGURIDAD ALIMENTARIA* (Primera ed, p. 533). México: Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Chiná–Instituto Tecnológico de la Zona Maya.
- Mahgoub, A. O., Gowid, S., & Ghani, S. (2020). Global evaluation of WBGT and SET indices for outdoor environments using thermal imaging and artificial neural networks. *Sustainable Cities and Society*, *60*, 102182. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scs.2020.102182>
- Maia, A. S. C., da Silva, R. G., & Bertipaglia, E. C. A. (2003). Haircoat traits in Holstein cows in tropical environments: a genetic and adaptative study. *Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science*, *32*(4), 843–853.
- McDowell, R E. (1967). Water exchange of cattle under heat stress. *Biometerol.*, *2*, 414.
- McDowell, R E. (1974). *Factores que influyen el la producción ganadera de climas cálidos. En: Bases Biológicas de la Producción Animal en Zonas Tropicales*. McDowell RE. (ed).
- McDowell, Robert E. (1972). Improvement of livestock production in warm climates. *Improvement of Livestock Production in Warm Climates*.
- McKechnie, A. E., & Wolf, B. O. (2019). The Physiology of Heat Tolerance in Small Endotherms. *Physiology*, *34*(5), 302–313. <https://doi.org/10.1152/physiol.00011.2019>
- Mejía, G. T., Magaña, J. G., Segura-Correa, J. C., Delgado, R., & Estrada-León, R. J. (2010). Comportamiento reproductivo y productivo de vacas *Bos indicus*, *Bos taurus* y sus cruces en un sistema de producción vaca: cría en Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, *12*(2), 289–301.
- Mense, M., Stark, G., & Apell, H.-J. (1997). Effects of Free Radicals on Partial Reactions of the Na,K-ATPase. *The Journal of Membrane Biology*, *156*(1), 63–71. <https://doi.org/10.1007/s002329900188>
- Mondelo, P. R., Torada, E. G., Vilella, E. C., Úriz, S. C., & Lacambra, E. B. (2004).

*Ergonomía 2: confort y estrés térmico* (Vol. 2). Universitat Politecnica de Catalunya. Iniciativa Digital Politecnica.

- Montoya, A. E., Cerón-Muñoz, M. F., Trujillo, E., Ramirez, E. J., & Angel, P. A. (2009). Frecuencia de los marcadores del gen leptina en razas bovinas criollas y colombianas: I. Romosinuano, Chino Santandereano, Sanmartinero y Velásquez. *Revista Científica*, 19(1).
- Moran, D. S., Pandolf, K. B., Shapiro, Y., Heled, Y., Shani, Y., Mathew, W. T., & Gonzalez, R. R. (2001). An environmental stress index (ESI) as a substitute for the wet bulb globe temperature (WBGT). *Journal of Thermal Biology*, 26(4–5), 427–431.
- Morel, P., Tallineau, C., Pontcharraud, R., Piriou, A., & Huguet, F. (1998). Effects of 4-hydroxynonenal, a lipid peroxidation product, on dopamine transport and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in rat striatal synaptosomes. *Neurochemistry International*, 33(6), 531–540. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(98\)00062-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0197-0186(98)00062-X)
- Nardone, A., Ronchi, B., Lacetera, N., Ranieri, M. S., & Bernabucci, U. (2010). Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livestock Science*, 130(1–3), 57–69.
- Neely, C., Bunning, S., & Wilkes, A. (2009). *Review of evidence on drylands pastoral systems and climate change*. Citeseer.
- Nienaber, J. A., Hahn, G. L., & Eigenberg, R. A. (1999). Quantifying livestock responses for heat stress management: a review. *International Journal of Biometeorology*, 42(4), 183–188.
- Niño, O. A., León, G. G., Rey, F. G., Salazar, A. R., & Salazar, C. A. (2002). *Caquetá, construcción de un territorio amazónico en el siglo XX*. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas" SINCHI".
- Nwankwoala, H. N. L. (2015). Causes of Climate and Environmental Changes: The Need for Environmental-Friendly Education Policy in Nigeria. *Journal of Education and Practice*, 6(30), 224–234.
- Odeón, M. M., & Romera, S. A. (2017). Estrés en ganado: causas y consecuencias. *Revista Veterinaria*, 28(1), 69–77.
- Oftedal, O. T., & Dhouailly, D. (2013). Evo-devo of the mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 18(2), 105–120.

- Ossa, G., Abuabara, Y., Pérez, J., & Martínez, G. (2011). El ganado criollo colombiano Costeño con Cuernos ( CCC ). *Animal Genetic Resources*, 48, 101–107. <https://doi.org/10.1017/S2078633611000014>
- Panadero, A. N. (2010). Importancia de los sistemas silvopastoriles en la reducción del estrés calórico en sistemas de producción ganadera tropical. *Revista de Medicina Veterinaria*, 19, 113–122.
- Parra, R I, Magaña, M. A., & Piñeiro, A. T. (2019). Intensificación sostenible de la ganadería bovina tropical basada en recursos locales: alternativa de mitigación ambiental para América Latina. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, 115(4), 342–359. <https://doi.org/https://doi.org/10.12706/itea.2019.003>
- Parra, Rosa Inés, Correal, G. M., & Rodas, M. V. (2021). Situación actual y perspectivas de la ganadería de bovinos criollos en América Latina: Situación actual y perspectivas de los bovinos criollos. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 29(3), 79–90.
- Patel, J. B., & Chauhan, J. B. (2017). Polymorphism of the Prolactin Gene and Its Relationship with Milk Production in Gir and Kankrej Cattle. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 8(2), 167–170. [https://doi.org/10.4103/jnsbm.JNSBM\\_303\\_16](https://doi.org/10.4103/jnsbm.JNSBM_303_16)
- Patel, T., Mullen, S. P., & Santee, W. R. (2013). Comparison of methods for estimating wet-bulb globe temperature index from standard meteorological measurements. *Military Medicine*, 178(8), 926–933.
- Pellecer, H. (2010). *Efecto del corte de pelo en ganado lechero sobre el consumo de alimento y la producción de leche*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012.
- Peters, H. F., & Slen, S. B. (1964). Hair coat characteristics of bison, domesticx bison hybrids, cattalo, and certain domestic breeds of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 44(1), 48–57.
- Pinzón, E. (1984). Historia de la ganadería bovina en Colombia. *Suplemento Ganadero*, 4(1).
- Porto, L. R., Bickhart, D. M., Landaeta-Hernandez, A. J., Utsunomiya, Y. T., Pagan, M., Jimenez, E., Hansen, P. J., Dikmen, S., Schroeder, S. G., Kim, E.-S., Sun, J., Crespo, E., Amati, N., Cole, J. B., Null, D. J., Garcia, J. F., Reverter, A., Barendse, W., & Sonstegard, T. S. (2018). Convergent Evolution of Slick Coat in Cattle through Truncation Mutations in the Prolactin Receptor. In *Frontiers in Genetics* (Vol. 9, p. 57).

<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fgene.2018.00057>

- Primo, A. T. (1992). El ganado bovino ibérico en las Américas: 500 años después. *Archivos de Zootecnia*, 41(154), 13.
- Quijano, L., Artunduaga, J., & López, R. (2015). Evaluación de dos protocolos de inseminación artificial a término fijo (IATF) con dos inductores de ovulación (benzoato de estradiol y cipionato de estradiol) en vacas raza criollo caqueteño en el departamento del Caquetá. *Revista Electronica de Veterinaria*, 16(9).
- Rashamol, V. P., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Archana, P. R., Bhatta, R., Rashamol, V. P., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Archana, P. R., & Bhatta, R. (2018). Physiological adaptability of livestock to heat stress: an updated review. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 6(3), 62–71. <https://doi.org/10.31893/2318-1265jabb.v6n3p62-71>
- Rhoads, M. L., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Collier, R. J., Sanders, S. R., Weber, W. J., Crooker, B. A., & Baumgard, L. H. (2009). Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 1986–1997. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2008-1641>
- Ribeiro, S., Souza, A., Barboza, B., Aparecida, G., & Piovezan, U. (2016). Temperatura superficial de bovinos considerando áreas com e sem a presença de pelos. *Embrapa Pantanal-Artigo Em Anais de Congresso (ALICE)*.
- Ríos, V., Ortiz, N., Valencia, A., & Orjuela, J. (2013). Estrés calórico y su relación con variables reproductivas en machos bovinos en la Amazonia Colombiana-Heat stress. *Revista Electronica de Veterinaria*, 14(4), 1–12. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63626164008.pdf>
- Rischkowsky, B., & Pilling, D. (2010). La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura [2010]. In *Comision de Recursos Geneticos para la Alimentacion y la Agricultura*. Rome (Italy) FAO.
- Roberts, R. J., Agius, C., Saliba, C., Bossier, P., & Sung, Y. Y. (2010). Heat shock proteins (chaperones) in fish and shellfish and their potential role in relation to fish health: a review. *Journal of Fish Diseases*, 33(10), 789–801. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2010.01183.x>

- Rojas, J. A., Barreiro, Y. B., & Ramos, J. M. (2011). Queso cocido, producto tradicional de la Amazonia occidental Colombiana. *Momentos de Ciencia*, 8(1).
- Román Gay, L. C. (2014). *Evaluación de medidas de mitigación del estrés calórico sobre las respuestas fisiológicas y productivas de vacas lecheras* [Udelar. FA]. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/24146>
- Romero, Castaño, R., Consuelo, L., Martín, H., & Alexander, J. (2017). *Influencia del microclima generado por el Pelá (Vachellia farnesiana (L.) Wight & Arn.), sobre el estrés calórico en bovinos doble propósito y su relación con la producción de leche en la finca " Santa Lucía", Natagaima-Tolima*. Corporación Universitaria Minuto de Dios.
- Romero, M. H., Uribe, L. F., & Sánchez, J. A. (2011). Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne: stress biomarkers as indicators of animal welfare in cattle beef farming. *Biosalud*, 10(1), 71–87.
- Rothfus, L. P., & Headquarters, N. W. S. S. R. (1990). The heat index equation (or, more than you ever wanted to know about heat index). *Fort Worth, Texas: National Oceanic and Atmospheric Administration, National Weather Service, Office of Meteorology, 9023*.
- Sailo, L., Gupta, I. D., Verma, A., Das, R., & Chaudhari, M. V. (2015). Association of single nucleotide polymorphism of Hsp90ab1 gene with thermotolerance and milk yield in Sahiwal cows. *African Journal of Biochemistry Research*, 9(8), 99–103.
- Salles, M. S. V., da Silva, S. C., Salles, F. A., Roma Jr, L. C., El Faro, L., Mac Lean, P. A. B., de Oliveira, C. E. L., & Martello, L. S. (2016). Mapping the body surface temperature of cattle by infrared thermography. *Journal of Thermal Biology*, 62, 63–69.
- Sanchez, C., Jiménez, L., & Bueno, M. (2006). Translocación Robertsoniana rob (1; 29) en bovinos criollos colombianos. *Rev. Med. Vet. Zoot*, 75–85.
- Sánchez, M. G. O., & Reyes, D. I. (2016). El Método LEST, Su Aplicación Y Evaluación En Las Prácticas Ergonómicas. *European Scientific Journal, ESJ*, 12(35).
- Sánchez, S. H. (2007). El estrés calórico y su amortiguamiento a través de las proteínas del estrés (Hsp)-Caloric stress and your deadening to the heat shock protein, Hsp. *REDVET*, 8(12). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121207B.html>
- Sanmiguel, R. A., Plazas, F. A., Trujillo, D. Y., Pérez, M. del R., Peñuela Sierra, L. M., & DiGiacinto, A. (2018). Requerimientos para la medición de indicadores de estrés

- invasivos y no invasivos en producción animal. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(1), 15–30.
- Santos, D. dos. (2014). *Uso da termografia infravermelha para avaliar a tolerancia ao calor em bovinos de leite submetidos ao estresse termico*. Universidade Federal do Rio Gandre do Soul.
- Saravia, C., & Cruz, G. (2003). Influencia del ambiente atmosférico en la adaptación y producción animal. *Montevideo, Universidad de La Republica*.
- Sastre, H. J. (2004). *Descripción, situación actual y estrategias de conservación de la raza bovina colombiana Criolla Casanare*. Universidad de Córdoba, Servicio de Publicaciones.
- Sevi, A., Annicchiarico, G., Albenzio, M., Taibi, L., Muscio, A., & Dell'Aquila, S. (2001). Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune response and production of lactating ewes under high ambient temperature. *Journal of Dairy Science*, 84(3), 629–640.
- Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, 67(1–2), 1–18.
- Silva, Roberto Gomes da, & Campos, A. S. (2011). Evaporative cooling and cutaneous surface temperature of Holstein cows in tropical conditions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(5), 1143–1147.
- Souza, B. B. (2010). Índice de conforto térmico para ovinos e caprinos: índice de temperatura do globo negro e umidade registrado em pesquisas no Brasil. *Farmpoint-Ovinos e Caprinos*.
- Sporer, K. R. B., Xiao, L., Tempelman, R. J., Burton, J. L., Earley, B., & Crowe, M. A. (2008). Transportation stress alters the circulating steroid environment and neutrophil gene expression in beef bulls. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 121(3–4), 300–320.
- Steane, D. E. (1992). NOTE ON THE FAO EXPERT CONSULTATION ON MANAGEMENT OF GLOBAL ANIMAL GENETIC RESOURCES ROME, 7-10 APRIL 1992. *Animal Genetic Resources Information*, 9, 3–6. <https://doi.org/DOI:10.1017/S1014233900004260>
- Suárez, E., Reza, S., Díaz, E., García, F., Pastrana, I., Cuadrado, H., & Espinosa, M. (2012).

- Efectos de las condiciones ambientales sobre el comportamiento ingestivo en bovinos de carne en un sistema intensivo en el Valle del Sinú. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2).
- Tao, S., Orellana Rivas, R. M., Marins, T. N., Chen, Y.-C., Gao, J., & Bernard, J. K. (2020). Impact of heat stress on lactational performance of dairy cows. *Theriogenology*, 150, 437–444. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.048>
- Tatis Zambrano, Roberto E; Botero Arango, L. M. (2005). *Génesis y consolidación del sistema vacuno en doble propósito*.
- Theurer, M. E., Anderson, D. E., White, B. J., Miesner, M. D., & Larson, R. L. (2014). Effects of weather variables on thermoregulation of calves during periods of extreme heat. *American Journal of Veterinary Research*, 75(3), 296–300. <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.3.296>
- Thom, E. C. (1959). The discomfort index. *Weatherwise*, 12(2), 57–61.
- Toledo, H. O., Berruecos Villalobos, J. M., & Vázquez Peláez, C. G. (2015). Efecto de la proporción de genes *Bos indicus* x *Bos taurus* sobre peso al destete y edad a primer parto en una población multirracial. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 6(1), 1–13.
- Torrijos. (2006). *CAQUETEÑO (CQT) - Ganado Criollo Colombiano*.
- Vargas, L. (2012). Nota técnica: el estrés por calor ambiental en el fútbol aumenta en superficies sintéticas. *PENSAR EN MOVIMIENTO: Revista de Ciencias Del Ejercicio y La Salud*, 10(1), 2–4.
- Velazco, J., & Rovira, P. (2012). Efecto del tipo de sombra en la ganancia de peso, tasa respiratoria y conducta de novillos sobre sudangras. *Editor: Pablo Rovira*.
- Vidal, a M. (2010). Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos. *TDX (Tesis Doctorals En Xarxa)*, 213.
- Villa, N., Chaverra, S., García, D., Nieto, N., & Ortiz, J. (2015). Efecto De La Temperatura Sobre El Semen Criopreservado De Dos Genotipos Bovinos Del Bos Indicus. *Cítecsa*, 6(10), 52–74.
- Vivas, V. (1989). *[Agroecological zoning of Caqueta]. [Spanish]*.



- Wang, Z., Wang, G., Huang, J., Li, Q., Wang, C., & Zhong, J. (2011). Novel SNPs in the ATP1B2 gene and their associations with milk yield, milk composition and heat-resistance traits in Chinese Holstein cows. *Molecular Biology Reports*, 38(3), 1749–1755.
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2131–2144.
- Wheelock, J. B., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Sanders, S. R., & Baumgard, L. H. (2010). Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(2), 644–655. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2009-2295>
- Willmer, P., Stone, G., & Johnston, I. (2009). *Environmental physiology of animals*. John Wiley & Sons.
- Xiong, Q., Chai, J., Xiong, H., Li, W., Huang, T., Liu, Y., Suo, X., Zhang, N., Li, X., Jiang, S., & Chen, M. (2013). Association analysis of HSP70A1A haplotypes with heat tolerance in Chinese Holstein cattle. *Cell Stress and Chaperones*, 18(6), 711–718. <https://doi.org/10.1007/s12192-013-0421-3>
- Yousef, M. K., & Johnson, H. D. (1966). Calorigenesis of Dairy Cattle as Influenced by Thyroxine and Environmental Temperature. *Journal of Animal Science*, 25(1), 150–156. <https://doi.org/10.2527/jas1966.251150x>

### **3. Morfometría del pelo y mutaciones funcionales del gen de la prolactina (PRL) y del receptor (PRLR) y su incidencia en la tolerancia al calor en bovinos.**

#### **Resumen.**

La investigación se realizó en la Región natural de la Amazonía colombiana, en el Centro de Investigaciones Amazónicas Macagual, región de clima tropical lluvioso de selva (Af). Se utilizaron 24 vacas de la raza criollo Caqueteño, 20 vacas doble, distribuidas en dos grupos, el primer grupo estaba conformado por 10 animales con cruces donde predominaba la genética de *B. taurus* (superior al 50%); el segundo grupo eran 10 vacas cruzadas donde predominaba la genética de *B. indicus* (superior al 50%), con promedio  $46 \pm 14$  meses de edad. Se extrajo ADN genómico de células epiteliales de la nariz boca y sangre, mediante lisis de las células y la membrana nuclear con buffer con alta concentración de sal (*Salting out*), se purificó el ADN con acetato de sodio, por PCR se amplificó el gen de la prolactina (PRL); con los primers F y R, el gen receptor de la prolactina (PRLR), con los primers F y R; los amplicones se pasaron por secuenciación automatizada.

Para el análisis del polimorfismo en los genes de prolactina (PL) y el receptor de prolactina (PLR) se estandarizó la extracción de ADN de muestras de sangre y de células epiteliales de boca y nariz, de cuarenta y cuatro (44) hembras, para la extracción de ADN mediante modificaciones a la técnica *salting out* (Hyde et al., 2017). Las células se resuspendieron en buffer TNES con SDS/proteínasa K (PK), e incubaron a 55°C durante 8 horas, las proteínas celulares se eliminaron por precipitación con NaCl y finalmente el ADN presente en el sobrenadante se concentró con etanol absoluto frío. La concentración del ADN obtenido se determinó mediante fluorescencia con la técnica de espectrofotómetro. El tamaño y calidad del ADN se determinó también por la amplificación por PCR del gen de la prolactina (PRL). El promedio y error estándar (ee) de la concentración de ADN obtenido a

partir de cada tipo de muestra se comparó por análisis de varianza (ANOVA) y se determinó la posible diferencia significativa aplicando la prueba de Fisher ( $p > 0.05$ ). Las concentraciones de ADN obtenidas en sangre periférica ( $70,86 \pm 9,1b \mu\text{g}/\mu\text{Lb}$ ), células de epitelio de nariz ( $58,73 \pm 29,9ab$ ) y epitelio de boca ( $48,78 \pm 45,9 a$ ), presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). De acuerdo con el patrón observado por fluorescencia del colorante EZvision® en geles de agarosa, el ADN obtenido de los tres tipos de muestras presentó un buen peso molecular, sin rastros de degradación y fue adecuado para la amplificación por PCR del gen PRL. El ADN extraído fue de buena cantidad y calidad, sin embargo, el que se extrajo de células epiteliales de boca y nariz es degradaron con el tiempo.

En los *Bos taurus* han reportó síndrome genético espontáneo y dominante, que genera, pelajes peludos por mutación en el PRL que afectan la termorregulación y en otros animales se generan pelajes cortos que favorecen la termorregulación por una mutación en el PRLR (Littlejohn *et al.*, 2014). En animales Senepol identificaron una mutación fenotípicamente recíproca con pelo corto que ayuda a la termotolerancia de los animales (Porto-Neto 2018).

El presente trabajo evaluó las variables ambientales temperatura (TA) y humedad relativa (HR) y el índice temperatura humedad (ITH), la incidencia de características morfométricas, color del pelo y mutaciones funcionales de los genes de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) sobre la temperatura superficial y frecuencia respiratoria como indicadores de tolerancia al calor en las horas de mayor potencialidad de expresión de estrés calórico en vacas criollo Caqueteño y cruces doble propósito con tendencia a *Bos taurus* o *Bos indicus*.

Se realizó una toma de muestras de pelo del anca y del dorso de cada animal en la semana final del mes de marzo de 2018, con el objeto de determinar el peso ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), densidad ( $\text{unidades}/\text{cm}^2$ ), longitud (mm) y diámetro ( $\mu\text{m}$ ) del pelo. A los animales se les determinó temperatura superficial (TS) y frecuencia respiratoria (FR). La medición de la TA, HR, ITH, TS y FR se realizó en los meses de abril a septiembre a las 7:00 am, 12:00 m, 12:30, 1:00 y 1:30 pm de lunes a jueves. La toma de muestra a las 7:00 am es con el propósito de tener como referente el comportamiento climático y fisiológico de los animales en las primeras horas de la mañana. Se realizó estadística descriptiva de promedios y errores estándar, análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar entre razas, prueba

de Fisher para comparación de medias, determinando diferencias con nivel de significancia  $p < 0,05$ . Se realizó análisis de componentes principales agrupando las observaciones de las variables de acuerdo a los tres tipos raciales (esta separación de grupos se realizó mediante distancias euclídeas).

Los cromatogramas se ensamblaron usando Gap4 del software del paquete Staden (<http://staden.sourceforge.net/>), la alineación de múltiples secuencias de nucleótidos se realizó usando el software MUSCLE (<https://www.drive5.com/muscle/>), las alineaciones se visualizaron, editaron y depuraron en el software AliView (<http://github.com/AliView>), las secuencias de nucleótidos se tradujeron a codones en TranslatorX (<http://translatorx.co.uk>), para la elaboración del árbol filogenético se utilizó la plataforma CIPRES Science Gateway (<http://www.phylo.org/>) se estimó el modelo evolutivo con el paquete jModelTest y el análisis filogenético se realizó con el paquete MrBayes v. 3.2.

En cuanto la temperatura superficial se encontró que el Criollo Caqueteño presentó menor TS con respecto a los otros tipos raciales, en la frecuencia respiratoria del Criollo Caqueteño y el *B. indicus* no presentaron diferencias, pero si hubo diferencia de estos dos tipos raciales con el *B. taurus*,

La longitud del pelo (mm), la densidad ( $\text{unid}/\text{mm}^2$ ) y el peso ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ), reportándose menores valores en el Caqueteño ( $5,0 \pm 0,14^{\text{a}}$  mm;  $8,54 \pm 0,4^{\text{a}}$   $\text{unid}/\text{mm}^2$  y  $1,02 \pm 0,0031^{\text{a}}$   $\text{g}/\text{cm}^2$  respectivamente), que en los *B. indicus* ( $6,45 \pm 0,7^{\text{b}}$  mm;  $12,71 \pm 0,6^{\text{b}}$   $\text{unid}/\text{mm}^2$  y  $1,04 \pm 0,01^{\text{a}}$   $\text{g}/\text{cm}^2$ , respectivamente) y *B. taurus* ( $6,27 \pm 0,7^{\text{b}}$  mm;  $12,75 \pm 0,6^{\text{b}}$   $\text{unid}/\text{mm}^2$  y  $1,03 \pm 0,01^{\text{ab}}$   $\text{g}/\text{cm}^2$  respectivamente), no presentaron diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ) en el diámetro del pelo entre los tipos raciales. Las horas de mayor temperatura ambiental fueron 12:00, 12:30, 1:00 y 1:30 pm., y la temperatura superficial del pelo de los animales presentó diferencias significativas ( $p = 0,016$ ) entre los Caqueteños ( $38,2^{\circ}\text{C}^{\text{a}}$ ) y los cruces con predominancia de *B. taurus* ( $38,5^{\circ}\text{C}^{\text{b}}$ ), la frecuencia respiratoria no presentó diferencias significativas ( $p = 0,0001$ ) entre los Caqueteños ( $39,4^{\circ}\text{C}^{\text{a}}$ ) y los *B. indicus* ( $40,0^{\circ}\text{C}^{\text{a}}$ ) y si hubo diferencia con los *B. taurus* ( $43,9^{\circ}\text{C}^{\text{b}}$ ).

Se realizó una clasificación de los alelos encontrados en PRL y PRLR teniendo en cuenta las variables longitud, densidad, diámetro del pelo y de la frecuencia respiratoria y temperatura superficial expresada por los animales a la 1:00 pm durante el periodo de abril a septiembre. Se realizó estadística descriptiva de promedios y errores estándar, análisis de varianza (ANOVA), prueba de Fisher para comparación de medias, determinando diferencias significancia ( $p < 0,05$ ) de cada una de las variables dentro de cada alelo. En la evaluación del PRL se encontraron 11 alelos donde se presume existe menor presión selectiva causando mayor diversidad comparado con el gen PRLR, donde se presentaron solo cuatro alelos. La región amplificada del PRL presentó polimorfismos que no alteraron el fenotipo de los animales. Sin embargo, en la región del PRLR se identificaron polimorfismos en el cromosoma 20 que consisten en el cambio de los nucleótidos Citosina por Timina (posición 39099267) y Adenina por Timina (posición 39099228), cambiando la información molecular de la prolactina receptora, lo que produce una pérdida de información en la proteína codificada, por lo tanto, a nivel fenotípico se presume que genera pelo corto en el Criollo Caqueteño.

Se encontró que el 88% de los Criollos Caqueteños expresan una mutación en el PRLR causando que la expresión del pelo corto (slick hair gene). Las diferencias en las medidas morfométricas expresadas en el pelaje pueden estar afectadas por las mutaciones del gen PRLR, en especial la longitud y la densidad de pelos por  $\text{cm}^2$ . Los menores valores de longitud, densidad y peso del pelo son factores determinantes para que los bovinos criollos Caqueteño presenten menor frecuencia respiratoria y temperatura superficial, por lo tanto son menos afectados por el estrés calórico causado por las altas TA y HR que se presentan en la región de trópico bajo y húmedo.

**Palabras clave:** Morfometría del pelo, criollo Caqueteño, *Bos taurus*, *Bos indicus*, frecuencia respiratoria, temperatura superficial, recurso genético local.

### 3.1 Introducción.

El cambio climático es el fenómeno de carácter mundial de mayor importancia que afecta negativamente los sistemas ganaderos, tiene muchas causas y afecta a todos los ecosistemas; específicamente los sistemas de producción de bovinos (Garzon-Alfonso, 2011), afectan negativamente los parámetros productivos, en especial en las regiones de trópico bajo que presentan altas temperaturas ambientales que sacan al animal de la zona de confort o termoneutra, entre 10 – 25°C para animales *Bos indicus* (Alzina et al., 2001).

Para el establecimiento de ganaderías que soporten las inclemencias climatológicas del trópico cálido, tradicionalmente se han realizado cruzamientos del ganado *B. taurus* y *B. indicus* (Araúz, 2017), para producir genotipos adaptados y capaces de disipar calor, con tendencia a ser animales de pelo corto (Botero, 2008) y con piel oscura (Araúz, 2017). Otros materiales genéticos con potencialidad de producir en condiciones climáticas adversas; en las regiones bajas y medio del trópico americano son las razas de bovinos criollas o recursos genéticos locales que presentan pelaje claro, corto, ralo y piel pigmentada; estas características no solo disminuyen la presencia de cáncer de piel causado por la radiación ultravioleta sino que también contribuyen en la termorregulación (Tatis y Botero, 2005).

La tonalidad del pelaje afecta la termorregulación de los bovinos, entre más oscuro sea el color del pelaje menor es la emisividad calórica (Araúz, 2017). La cantidad de energía calórica cambia dependiendo del color del pelaje y la piel, el color oscuro aumenta el calentamiento epidérmico con alteraciones fisiológicas (West, 2003).

La longitud del pelo incide sobre los procesos termorreguladores de los bovinos, los descendientes del *Bos taurus* presentan pelos largos, delgados y en mayor densidad por cm<sup>2</sup>, generando mayor estrés calórico que los descendientes del *Bos indicus* (Villalobos, 2012; Yoo, 2014 y Maia et al., 2003), estos últimos tienen mayor regulación de la temperatura corporal en el estrés calórico, resultado de mayor capacidad para perder calor (Hansen, 2004). El pelo en los bovinos se clasifica según la longitud, menor o igual a 3 mm es corto; de 3,1 a 5,0 mm es medio; de 5,1 a 9,0 mm es largo y superior a 9 es muy largo (Botero, 2008); esta característica determina el grado de afectación de la temperatura

en el estrés calórico en los bovinos; los *Bos indicus* poseen pelo corto o mediano y los *B. taurus* pelo largo o muy largo.

En biología molecular los genes son las unidades encargadas de definir la herencia genética (Corella & Ordovas, 2017), hay genes capaces de definir varias características fenotípicas, conocidos como efectos antagónicos pleiotrópicos (Littlejohn et al., 2014). La vía de señalización de la prolactina participa en los procesos de la lactancia, el desarrollo del cabello y la homeotermia, los cuales son rasgos evolutivos característicos que diferencia a los mamíferos de otras especies de vertebrados.

El desarrollo del pelo corporal y la regulación homeotérmica del animal presentan vínculos fisiológicos, una de las funciones del pelo corporal es generar un manto que aisle al animal. La lactancia también comparte función biológica común con estos procesos, donde similitudes en la estructura y funcionabilidad de las mamas, lo que ha llevado a la hipótesis de que ellas evolucionaron a partir de una estructura de glándulas apocrinas, es decir que segregan pequeñas cantidades de grasa a la leche (Ofstedal & Dhouailly, 2013).

El gen de la prolactina (PRL) y el receptor de la prolactina (PRLR) contribuyen en definir la longitud del pelo (Craven et al. 2001 y Littlejohn et al. 2014). En los *Bos taurus* se encontró un síndrome genético espontáneo y dominante, que presenta fenotipos con pelaje excesivamente "peludo" y disfunción termorreguladora, esta nueva mutación en la misma vía molecular es la que define las características termotolerantes de la raza de ganado Senepol, esta mutación que se presentó en el PRLR p.Leu462, o alguna otra variante desconocida, en el mismo haplotipo causa pelo corto (Littlejohn et al., 2014).

El estado de confort o estrés calórico en los bovinos puede ser evaluado determinando temperatura superficial (TS) o rectal o del pelaje y las frecuencia respiratoria (FR) o cardiaca (Correa et al. 2009; Santos, 2014). La TS es un buen indicador, permite estimar el nivel de estrés de los bovinos, debido a que el calor se transmite por el gradiente existente entre la TS del animal y la temperatura del aire. Un bovino en la sombra genera que la TS y la del aire sean muy cercanas, pero si está expuesto directamente a los rayos del sol, la TS es

alta (Saravia & Cruz, 2003). La FR también es un buen indicador del estrés calórico animal debido a la correlación con las variables climáticas (Correa et al., 2009).

Evaluar las variables ambientales la HR, la TA el ITH, las morfométricas longitud, densidad, peso y diámetro del pelo, los polimorfismos del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR); con el objetivo de asociarlas con la temperatura superficial y frecuencia respiratoria en vacas de los grupos raciales: criollo Caqueteño, cruces donde predominan los *B. indicus* y un último grupo de animales cruzados donde predominan los *Bos taurus*.



## **3.2 Materiales y métodos.**

### **3.2.1 Ubicación geográfica.**

Los animales, el laboratorio de biología molecular y las instalaciones de manejo están en el Centro de Investigaciones Amazónicas MACAGUAL (CIMAZ Macagual) Cesar Augusto Estrada González de la Universidad de la Amazonia, el cual se encuentra ubicado en la región natural de la Amazonia colombiana a los 1°37' N y 75°36'W, a 20 Km de la ciudad de Florencia-Caquetá. El CIMAZ Macagual según clasificación de Koeppen se encuentra en la región agroclimática tropical lluvioso de selva (Af) (Eslava, 1993), la cual se caracteriza por tener temperatura ambiental (TA) promedio de 25.5° C, con pluviosidad 3793 mm/año, con luminosidad de 1707 horas de brillo solar/año, con humedad relativa 84.27% y una altitud de 250 msnm (Estrada & Rosas, 2007).

### **3.2.2 Área de estudios e instalaciones.**

El área destinada para la evaluación fue una zona de vega, los animales pastoreaban franjas divididas con cerca eléctrica que tenían áreas que oscilaban entre de 1.2 y 1.3 hectáreas. La gramínea predominante en los potreros era la *Brachiaria humidicola* y en los potreros se presentaban árboles dispersos que proporcionaban sombra. Los animales tenían acceso a bebedero natural de fuente hídrica corriente. El periodo de ocupación fue de 4 días, garantizando cantidad y calidad de alimento para su mantenimiento.

El corral usado tenía los espacios adecuados, brindaban las condiciones de seguridad para el personal y los animales, facilidad de la manipulación, relacionamiento con el hato, con acceso a agua potable, el brete permitía la inmovilización para toma de muestras en los animales.

### **3.2.3 Animales.**

Se utilizó un grupo de vacas compuesto por 24 vacas de la raza criollo Caqueteño, un segundo grupo de 10 animales con cruces con predominancia genética *B. taurus* (superior al 50%); y un tercer grupo que tenía 10 vacas donde predominaba la genética de *B. indicus* (superior al 50%). Las vacas tenían edades entre 46 ± 14 meses. La identidad racial y la edad de cada animal fue validada utilizando el software ganadero SG versión 14.

### **3.2.4 Consideraciones de Bienestar Animal.**

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, considerando que los procedimientos planteados se ajustan a la normatividad establecida para el cuidado y uso de animales en investigación, aprobación registrada mediante reunión del 8 de febrero de 2018.

### **3.2.5 Toma de muestra de pelo.**

Para la toma de muestras de pelo se aplicó xylocaina en spray tópico, donde se tomaron las muestras de pelo. Un 1 cm<sup>2</sup>, entre la séptima vertebra y la cruz del animal (cruz) y el otro a nivel lumbar (anca), para tomar la muestra se usó pinza con tela en la punta y se depositaron en bolsa plástica.

### **3.2.6 Determinación de las medidas morfométricas del pelo.**

Con balanza analítica de cuatro decimales se pesaron todos los pelos colectados en 1cm<sup>2</sup>; para determinar la cantidad y la longitud se utilizó caja de petri milimetrada y estereoscopio marca Leica zoom 2000 Mr, por cada muestra se midió la longitud a diez pelos completos El diámetro se realizó con microscopio de marca Leica DM 500, con objetivo 40X y usando rejilla microcrométrica. Se midió en el tallo que es la parte más gruesa del pelo (Barbosa *et al.*, 2014).

### **3.2.7 Determinación de temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) e índice de temperatura humedad (ITH), frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial (TS).**

Para determinar los valores climatológicos temperatura ambiente (TA), la humedad relativa (HR), y el índice de temperatura humedad (ITH) se utilizó estación climática portátil, marca Kestrel (serial 4400). Para realizar la toma de la temperatura superficial (TS) de los animales en los potreros, se utilizó una cámara termográfica (marca Flus, serial IR-890), se apuntaba a la parte superior del dorso, a una distancia de 3-4m. Para determinar la frecuencia respiratoria (FR) por minuto se evaluó mediante observación directa de los movimientos de la caja torácica de los animales de acuerdo con (Alzina-López *et al.* 2001 y Espinoza 2002.

Los datos de TS, FR, TA, HR e ITH, se tomaron durante los meses de Abril a Septiembre del año 2018, en los días de Lunes a Jueves en las horas de 7:00 am, 12:00, 12:30, 1:00 y

1:30. La selección de las horas se realizó teniendo en cuenta tomar una en las primeras horas de la mañana (7:00 am) la cual servirá de referencia y las horas donde tradicionalmente se presenta mayor temperatura ambiental (12:00 m, 12:30pm, 1:00pm y 1:30 pm)

### 3.2.8 Análisis de datos.

Se procesaron los datos de concentración de ADN genómico empleando el Software InfoStat (versión 2018). Realizando estadística descriptiva, análisis de varianza ANOVA y prueba de comparación de medias LSD Fisher para la variable concentración de ADN de la muestra, con un nivel de significancia (0,05), donde la hipótesis nula ( $H_0$ ) planteo que los promedios de las concentraciones de ADN obtenidas de células epiteliales de nariz, boca y sangre periférica son iguales estadísticamente; Cuando  $p < 0,05$  se rechaza la hipótesis, pero si  $p > 0,05$  se acepta esta hipótesis.

Las variables TA, HR al igual que el ITH se registraron a las 7:00 am, 12:00 m, 12:30 pm y 1:00 pm, durante los meses de abril a septiembre. Se realizaron pruebas de Fisher LSD para determinar diferencias significativas entre las variables longitud, densidad, peso, diámetro de pelo entre los tres tipos raciales.

Todos los análisis fueron realizados con Infostat (Di Rienzo et al., 2018) mediante una interface de R versión 3.2.0 (R Core Team, 2017), basado en el paquete nlme (Pinheiro et al., 2016). Todas las variables fueron relacionadas entre grupos raciales mediante análisis de componentes principales (Ruales E & Manrique P, 2007).

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el modelo

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + H_j + RH_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \quad \text{Donde:}$$

$Y_{ijk}$  es la variable dependiente;  $\mu$  es el promedio experimental;  $R_i$  es el efecto del tipo racial;  $H_j$  es el efecto de la hora  $j$  (7:00 am, 12:00m, 12:30pm, 1:00pm y 1:30pm);  $RH_{ij}$  es el término de interacción entre el tipo racial  $i$  y la hora  $j$ ;  $\varepsilon_{ijk}$ , es el término de error aleatorio con distribución normal, media cero y varianza constante (Di Rienzo et al., 2018).

Para entender la relación entre los individuos estudiados y las variables de respuesta fisiológica, se realizó un gráfico biplot (M. G. Balzarini et al., 2016). Este análisis tuvo en cuenta la relación entre grupos raciales y las variaciones morfométricas de pelo, temperatura superficial y frecuencia respiratoria (M. G. Balzarini *et al.*, 2016). La agrupación de individuos basados en las variables estudiadas, fue realizada mediante distancia Euclidea (M. Balzarini *et al.*, 2015). Todos los análisis fueron realizados con Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018) mediante una interface de R versión 3.2.0 (R Core Team, 2017), basado en el paquete nlme (Pinheiro *et al.*, 2016).

Se realizó asociación de las variables longitud, densidad, peso, diámetro del pelo, frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial (TS) con los alelos de PRL y PRLR. Determinando promedios errores estándar y comparación de medias por cada variable dentro del alelo.

### **3.2.9 Extracción ADN de células epiteliales de la nariz y boca.**

Luego de la inmovilización de los animales en brete metálico con cuellera y puerta trasera, se lavó las fosas nasales y la boca con abundante agua y se secó con toallas de papel desechables, eliminando el exceso de mucosidad nasal y cuerpos extraños. Previo a la toma de muestras se identificaron los tubos eppendorf de 1.5 mL, adicionando a cada tubo 600  $\mu$ L de TNES (50 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, 100 mM NaCl and 1% SDS). Para la toma de muestra de células epiteliales de las fosas nasales se utilizó un cepillo de citología, las muestras se retiraron con ayuda de una cuchilla metálica desechable, se realizaron varios frotis, recolectándose 500  $\mu$ L de muestra y se depositaron en tubos, los cuales se colocaron en nevera con hielo y se almacenaron 4°C hasta su procesamiento.

Después de homogenizar con vortex por 10 segundos, se adicionaron 35  $\mu$ L de solución de proteinasa K a una concentración final de 20 mg/ml. La digestión se realizó durante mínimo 8 h en incubación a 55 °C. Finalizada la digestión se adicionó 200  $\mu$ L de NaCl 5M para precipitar las proteínas y demás residuos celulares, para esto se mezcló con vortex durante 20 segundos a velocidad moderada y se centrifugó a 14800 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante fue extraído y se mezcló en un tubo nuevo con el

mismo volumen de etanol absoluto frío. La precipitación fue realizada a -20 °C por lo menos 2 horas (Laitinen et al., 1994).

El ADN precipitado se recolectó por centrifugación a 14800 rpm por 30 minutos a 4 °C. Después de eliminar todo el sobrenadante se adicionaron 1000 µl de etanol al 75% frío para eliminar las sales en exceso. Se descartó el sobrenadante después de una breve centrifugación 14800 rpm por 10 minutos, se repitió el lavado tres veces y se dejó secar el ADN precipitado a temperatura ambiente. El ADN se resuspendió en 200 µl de agua tipo A1, libre de nucleasas. El ADN fue almacenado a -20 °C hasta su utilización en procesos posteriores.

La extracción del ADN genómico de las muestras del epitelio de la nariz se realizó empleando el método reportado por Aidar & Line (2007), que se basa en la lisis de las células y la membrana nuclear con buffer con alta concentración de sal (*Salting out*), compuesto por Tris NaCl y EDTA (TNES). Este protocolo separa el ADN por previa precipitación de las proteínas y demás residuos celulares en presencia de alta concentración de NaCl y posteriormente se precipitó con etanol absoluto.

### **3.2.10 Extracción ADN de tejido sanguíneo.**

La muestra de sangre fue extraída empleando Tubos BD Vacutainer® con EDTA K2, de la vena coccígea de la cola de sujetos inmovilizados que se lavó previamente con abundante agua, se secó con toallas de papel y posteriormente se desinfectó con alcohol al 70%, las muestras fueron llevadas al laboratorio en nevera con hielo y almacenadas a 4°C hasta su procesamiento.

La extracción de ADN de sangre periférica con la técnica *Salting out* fue realizada empleando el método descrito por Mwer et al., (1988), en tubo eppendorf de 2 mL se adicionó 1 mL de muestra y 1 ml de agua, se mezcló por 30 segundos con la ayuda de vortex y se desechó el sobrenadante obtenido por centrifugación 7000 rpm por 5 minutos, este procedimiento se repitió tres veces. Se adicionó 100 µL de SDS 10% en 1mL de buffer de lisis TNE con pH 8 conformado por Tris HCl 10 mM, NaCl 400 mM y EDTA 2mM, se resuspendió invirtiendo el tubo suavemente durante seis veces, se agregó 20 µL de

proteinasas K con una concentración de 20 mg/mL. Mezclando suavemente los tubos varias veces por inversión y posterior digestión enzimática llevada a cabo en baño de maría a una temperatura de 55°C durante 90 minutos. Seguidamente se adicionó 200 µL y los tubos se colocaron en nevera con hielo durante tres minutos, después de aplicar vortex a alta velocidad por 15 segundos y centrifugación a 13000 rpm por 20 minutos se colecta entre 800 y 1000 µL y se transfiere a otro tubo eppendorf de 2 mL, se adiciona volumen igual de etanol absoluto (99%) frío, mezclándolo suavemente por inversión varias veces, se centrifuga a 13000 rpm por 20 minutos a una temperatura de 4°C, con cuidado se descarta el sobrenadante sin retirar el pellet, posteriormente se realizan dos lavados descartando el sobrenadante adicionando 500 µL de etanol (70%) frío y se centrifuga a 10000 rpm durante 5 minutos. Después del secado a temperatura ambiente se resuspendió en 100 µL de agua ultra purificada A1, libre de nucleasas a temperatura de 55°C, se almacenó a 4°C. el ADN que se trabajó en las siguientes dos semanas y el resto a -20°C para conservación a mayor tiempo (Mwer et al. 2015).

### **3.2.11 Purificación del ADN genómico por precipitación salina.**

La eliminación de los contaminantes de las muestras de ADN genómico extraído se realizó adicionando a la muestra de ADN agua tipo A1 hasta un volumen de 200 µL, posteriormente 20 µL de Acetato de sodio ( $C_2H_3NaO_2$ ) 3M, después de mezclar por vortex durante 20 segundos se le realizó spin a 8000 rpm, seguidamente se adicionaron dos volúmenes de etanol absoluto frío y se almacenó a -20 °C toda la noche. Se centrifugó a 14000 rpm durante 30 minutos a 4 °C (Miller 1988).

El sobrenadante se eliminó por inversión del tubo y se adicionaron 300 µL de etanol al 70% para eliminar el exceso de sales. Los residuos de etanol se eliminaron por centrifugación a 14000 rpm durante 5 min y el botón de ADN se dejó secar por exposición a temperatura ambiente con el tubo abierto sobre papel absorbente. EL ADN genómico extraído se resuspendió en 200 µL de agua ultra purificada Tipo A1, libre de nucleasas. La solución con el ADN se almacenó a 4 °C para su utilización las siguientes semanas, se cuantificó con Nanodrop y el resto se llevó a -20 °C para almacenamiento y conservación a mayor tiempo.

### **3.2.12 Cuantificación y visualización del ADN genómico.**

Para determinar la concentración del ADN extraído se procedió a disolver 50 µL de la solución en 350 µL de agua destilada. La concentración de ADN se determinó por Nanodrop.

Una fracción de 10 µl de la solución de ADN genómico obtenido de las vacas fue mezclado con 2 µl de buffer de carga que contenía el colorante EZvision®, también se preparó el marcador de peso con 3 µl de agua de agua ultra purificada Tipo A1, libre de nucleasas, 2 µl de buffer de carga que contenía el colorante EZvision® y 1 µl de ladder y separados en un gel de agarosa al 1% en buffer TAE 1X. La electroforesis fue corrida por 40 minutos con una corriente constante de 1 mAmp/cm. La calidad del ADN se determinó por la fluorescencia del colorante intercalado entre las bases del ADN bajo luz ultravioleta (UV), utilizando el foto-documentador Enduro™ GDS. El tamaño del ADN genómico fue calculado por comparación con el marcador de peso molecular de 1kb DNA Ladder.

### **3.2.13 Amplificación de los genes de Prolactina y su receptor por PCR.**

El gen PRL abarca aproximadamente 8.600 nucleótidos, incluyendo cuatro intrones y cinco exones. Para este estudio, se amplificó un fragmento de 392 nucleótidos que forma parte del exón cinco cerca del extremo 3' UTR con los siguientes primers (PRL-F: (5'-CAC TGG CTC CAA AAT CCA AGT GT-3'); PRL-R: (5'-GCT CAG AGA AGT TTG CCA GGG-3') (PRL; Gene ID: 280901). Por otra parte, PRLR tiene una longitud de 20.000 nucleótidos con 10 intrones y 11 exones. La amplificación se realizó en el exón diez del tamaño de 506 nucleótidos utilizando los primers PRLR-F: (5'-CAG GCC CCT CAG AGC ACA AG-3'); PRLR-R: (5'-TGC GGA TCC GGC ACC AAT AC-3') (PRLR; NCBI Gene ID:281422). Los primers se diseñaron usando el software primer3 Web Server ([bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0](http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0)).

Para cada amplificación se utilizó un volumen de 50 µL de mezcla de reacción que consistió de 0,2 mM de dNTPs, 0,2 µL de cada primer, Buffer Taq 1x (100 mM tris-HCl (pH entre 8 y 9 a 25°C), 500 mM KCl, 0,8% Nonidet P40 ) y 2,0 mM de MgCl<sub>2</sub>. Se agregaron 5 µL del DNA de cada muestra y 2.5 µL de la enzima Taq polimerasa por mezcla de reacción.

Para cada ensayo se empleó como control positivo de la amplificación una muestra de DNA extraída de linfocitos de sangre periférica de una vaca Como control negativo se realizó la amplificación con la mezcla de reacción en ausencia de DNA. La amplificación se efectuó en un equipo Termociclador Thermofisher Scientific empleando un programa que consistió: tres minutos de desnaturalización a 95°C en el primer ciclo y 35 ciclos con el siguiente esquema 30 segundos de desnaturalización a 95°C y 30 segundos de alineamiento a 55°C, 30 segundos de extensión a 72°C y al final 10 minutos en un último paso de extensión a 72°C para completar los fragmentos y se conserva a 4°C.

El fragmento amplificado se visualizó tomando una fracción de 10 µl de la solución de productos de PCR fue mezclado con 2 µl del colorante EZvision®, también se preparó el marcador de peso con 3 µl de agua de agua ultra purificada Tipo A1, libre de nucleasas, 2 µl de buffer de carga que contenía el colorante EZvision® y 1 µl de ladder y separada en un gel de agarosa al 1% en buffer TAE 1X. La electroforesis fue corrida por 40 min con una corriente constante de 1 mAmp/cm. La calidad del ADN se determinó por la fluorescencia del colorante intercalado entre las bases del ADN bajo luz ultravioleta (UV), utilizando el foto-documentador Enduro™ GDS. El tamaño del ADN genómico fue calculado por comparación con el marcador de peso molecular de 1kb DNA Ladder.

#### **3.2.14 Secuenciación de los genes de PRL y PRLR y ensamblaje de ADN.**

Los amplicones se secuenciaron en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá, en sentido Forward usando ABI Prism 3730 automated DNA sequencer (PE Corporation), se analizaron y editaron con Gap4 from the Staden Package software (Staden *et al.*, 2000).

#### **3.2.15 Caracterización de amplicones PRL y PRLR y análisis de polimorfismos.**

Las secuencias obtenidas fueron validadas utilizando BLASTN integrado en la base de datos de Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) con un E-value < 0.01, con el objetivo que lo asociara con las razas que no presentaran diferencias significativas. Los dominios funcionales presentes en las proteínas codificadas en los amplicones fueron identificados mediante las herramientas pfam (<http://pfam.xfam.org>) y Smart Protein (<http://smart.embl-heidelberg.de>) (Finn *et al.*, 2016). Se construyeron alineamientos de secuencias múltiples de longitud completa utilizando CLUSTALW (Thompson *et al.*, 2002). Las secuencias se analizaron y editaron en Jalview (<http://www.jalview.org>) (Clamp *et al.*, 2004).

#### **3.2.16 Análisis filogenéticos basados en genes PRL y PRLR.**

Las filogenias fueron obtenidas mediante inferencia Bayesiana (IB) con el programa MrBayes v3.2 (mrbayes.sourceforge.net) (F Ronquist *et al.*, 2009), y máxima verosimilitud



(MV) en RAxML ([cme.hits.org/exelixis/web/software/raxml](http://cme.hits.org/exelixis/web/software/raxml)) (Stamatakis, 2014), a partir del total de nucleótidos de cada secuencia (Meyer *et al.*, 2019). El análisis bayesiano se realizó siguiendo un modelo de sustitución de nucleótidos Kimura 2-parameter previamente estimado usando jModelTest v2.1.10 on PHYML 3.0. 12. (Darriba *et al.*, 2012).

El análisis inferencia bayesiana (IB) se basó en el modelo general time reversible (GTR) usando una proporción de sitios invariantes y distribución gamma ( $\Gamma + I$ ). Se utilizaron cinco ejecuciones independientes empleando un modelo Markov Chain Monte Carlo (una cadena fría y tres calientes) para 10.000.000 generaciones con un muestreo cada 1.000 (Jin *et al.*, 2019). El 25% de las generaciones se descartó como burn-in y la desviación estándar media final de las frecuencias de división en cada análisis fue  $p < 0,01$  (Fredrik Ronquist *et al.*, 2012). El análisis de máxima verosimilitud (MV) fue inferido en RAxML (Stamatakis, 2014), teniendo en cuenta el modelo GTR. La filogenia se llevó a cabo bajo 1.000 iteraciones. Para seleccionar el mejor árbol se calculó el nivel de confianza en cada nodo mediante un bootstrapping el cual tuvo 1.000 réplicas (Felsenstein, 1985). Por último, los árboles filogenéticos resultantes se visualizaron mediante FigTree v1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk>) (Rambaut *et al.*, 2018) y se editaron usando el paquete de Adobe Illustrator (<https://www.adobe.com>).

### **3.3 Resultados.**

#### **3.3.1 Caracterización de la población de estudio.**

El estudio se realizó en un total de 44 vacas con edades de  $46 \pm 14$  meses; de las cuales 24 eran de la raza criollo Caqueteño, 20 vacas doble propósito multirraciales, de las cuales 10 eran animales cruzados que tenían en su conformación niveles superiores al 50% de genes *Bos taurus* y las otras 10 vacas tenían en su conformación niveles superiores al 50% de genes *Bos indicus*, los datos de su tendencia racial o genética, al igual que su edad se tomaron del Software ganadero versión 14.

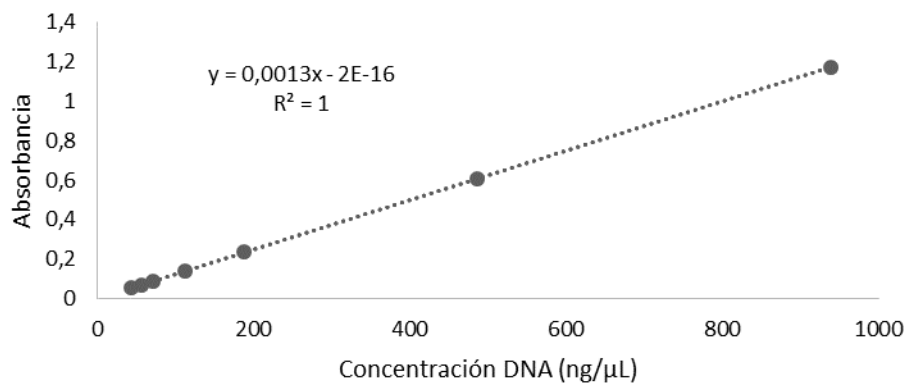
#### **3.3.2 Colecta, transporte y almacenamiento de muestras de ADN.**

La toma de las muestras permitió determinar que los tres tipos de muestreo requieren del uso del brete, las muestras de nariz y boca son rápidas, fácil de obtener, económicas (tabla 3-1). Las muestras sanguíneas obtenidas, fueron inmediatamente sometidas a bajas temperaturas en termos con hielo para evitar daños y extraer sin dificultad el ADN, las muestras de células epiteliales de boca y nariz se trabajaron a temperatura ambiente, todas las muestras fueron procesadas inmediatamente.

#### **3.3.3 Estimación de Concentración de ADN por espectrofotómetro**

El estimar el ADN por la técnica de espectrofotometría se realiza por medio de dos pasos, primero de terminar la curva de calibración y las curvas de tendencia de la absorbancia en el espectrofotómetro para la estimación de su concentración. La estimación de la concentración de ADN por espectrofotometría requiere realizar curva de calibración, para lo cual se necesita tener concentración conocida de ADN, a la cual se le realizan diluciones y con el espectrofotómetro se midió la absorbancia de cada punto (figura 3-1).

**Figura 3-1:** Curva de calibración de absorbancia para determinar concentración de ADN por espectrofotómetro.



El uso de la curva de calibración permite demostrar que medir la absorbancia de la luz UV por absorbancia con espectrofotómetro es preciso para determinar la concentración de ADN (tabla 3-1).

**Tabla 3-1:** Estimación de las concentraciones de ADN por espectrofotometría y curva de calibración de muestras obtenidas de boca, nariz y sangre de bovinos.

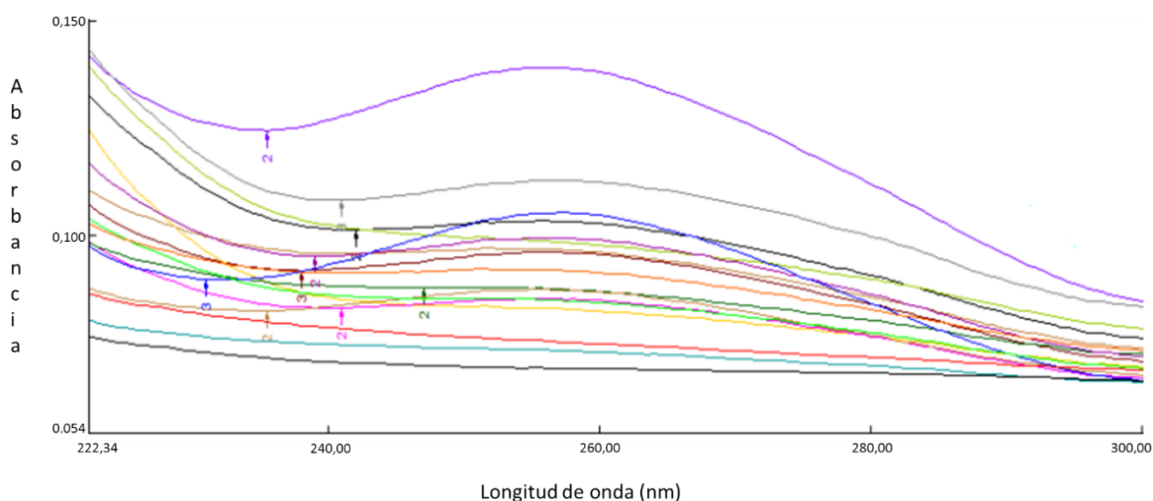
Muestra	Concentración de ADN ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )			
	Espectrofotometría*	EE**	Curva de calibración*	EE*
Boca	48,78 <sup>a</sup>	5,6	45.90 <sup>a*</sup>	5.9
Nariz	58,73 <sup>ab</sup>	6,3	56.38 <sup>ab</sup>	6.7
Sangre	70,86 <sup>b</sup>	9,1	71.95 <sup>b</sup>	8.5

\*LSD Fisher, Distintas letras representan diferencias significativas a un nivel de confiabilidad del 95% y significancia P 0,05. \*\* Error Estándar.

Curvas de tendencia de la absorbancia que permite identificar el rango de la longitud de onda donde se encuentra el ADN y la estimación de su concentración.

Con el ADN extraído se realizó un barrido en el espectrofotómetro encontrándose que el rango de la longitud de onda donde se encuentra las concentraciones de ADN está entre 220 y 300 nm, presentándose el pico 260 nm (figura 3-2). Las curvas de tendencias del espectro para las concentraciones de ADN, se empiezan con la muestra blanco (agua) y seguido de las muestras tomadas de células epiteliales de boca, nariz y de células sanguíneas de los bovinos.

**Figura 3-2:** Curvas de absorbancias ADN muestras de células epiteliales de nariz, boca y sangre de bovinos.

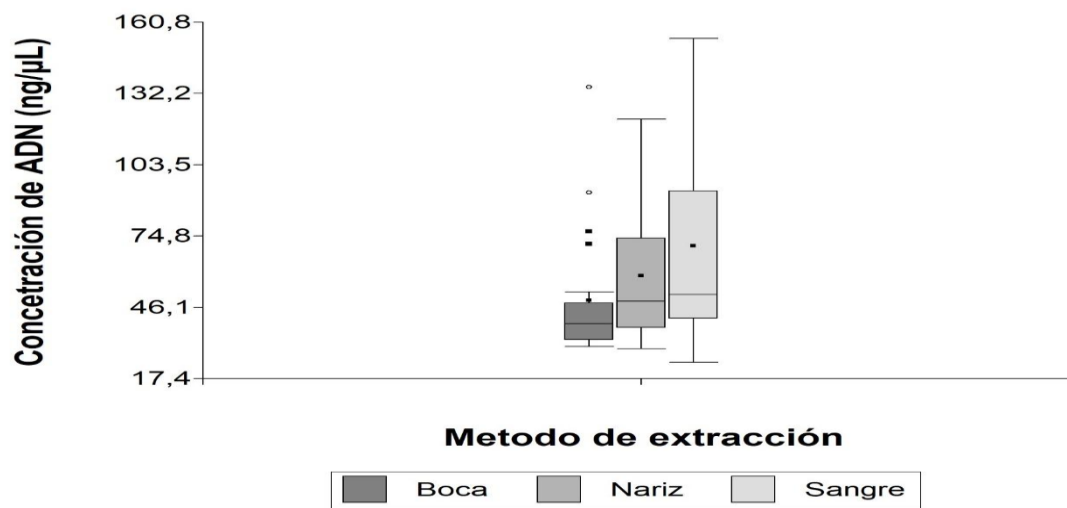


### 3.3.4 Estimación de concentración de ADN por espectrofotometría.

Se logró extraer ADN de los tres tipos de muestras evaluadas, células epiteliales de boca, nariz y tejido sanguíneo, pero para las muestras bucales y de nariz fue indispensable tomar buena cantidad de muestra, volumen mínimo de 500  $\mu$ L. La calidad del ADN fue determinada por electroforesis en gel de agarosa al 1,0% teñido con EZ Visión. Se tomaron y se repitieron las muestras hasta lograr que el 100% de los animales presentaran banda de alto peso molecular (altura de migración superior a la banda del marcador de peso molecular de 2kb, figura 3-4) y cantidad adecuada.

De todos los animales usados en la investigación se logró extraer ADN con las tres metodologías evaluadas, pero el rendimiento en la concentración aumentó notablemente cuando se realizó el proceso de purificación del ADN. Aunque se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios de las muestras de células epiteliales de la boca ( $48,78^a \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), nariz ( $58,73^{ab}$ ) y sangre ( $70,86^b$ ). La estandarización de las técnicas de extracción de ADN de células epiteliales de boca o nariz son apropiadas para obtener ADN en buena cantidad al compararlo con la técnica tradicional de muestras sanguíneas (Figura 3-3).

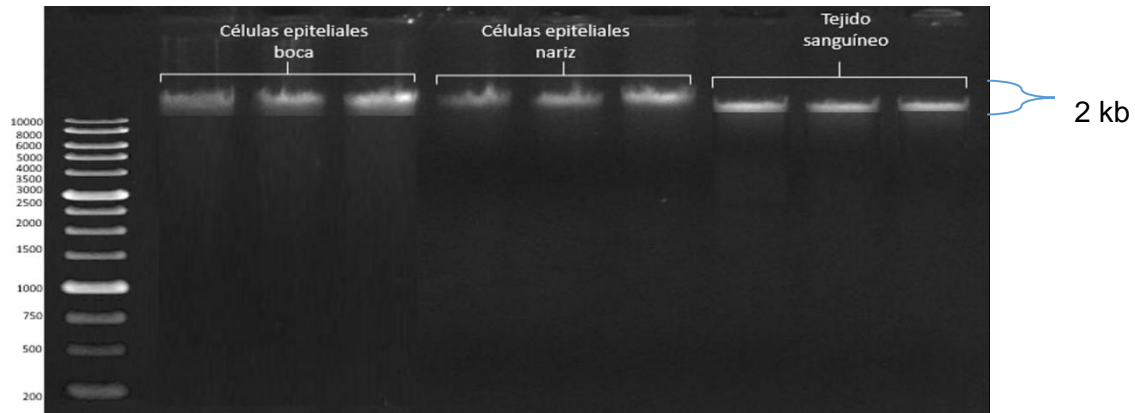
**Figura 3-3:** Concentraciones de ADN de células epiteliales de la boca, de la nariz y de tejido sanguíneo.



### 3.3.5 Visualización del ADN de las muestras de boca, nariz y sangre.

La calidad del ADN extraído de las células epiteliales de la mucosa oral, de la nariz y del tejido sanguíneo fue determinada mediante el análisis de electroforesis en gel de agarosa al 1%, teñido con el colorante EZvisión, todas las muestras procesadas presentaron bandas de alto peso molecular y cantidad apropiada (altura de migración superior a la banda del marcador de peso molecular de 2 kb). Los protocolos de extracción de células epiteliales de boca, nariz o sangre permitieron obtener ADN integro sin signos de degradación, bajo contenido de contaminantes y niveles de ADN aceptable (figura 3-4), con la particularidad que el ADN extraído de células epiteliales de boca y nariz generan menos estrés en los animales al ser metodologías no invasivas.

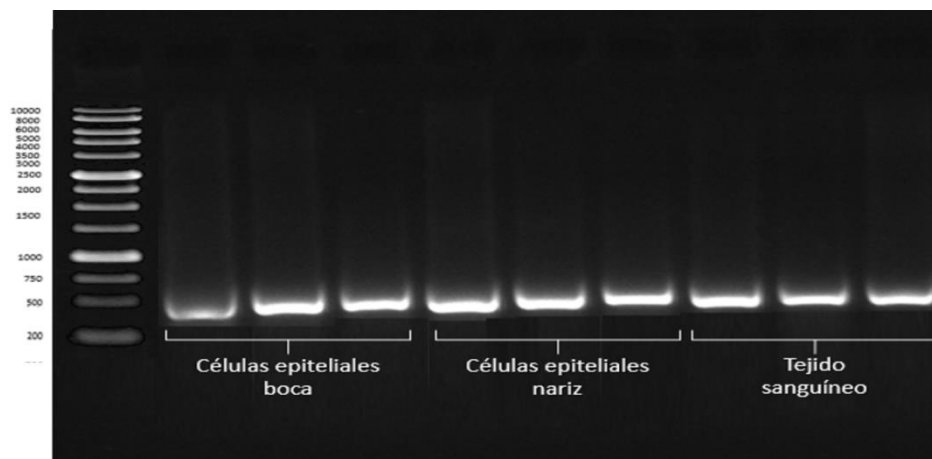
**Figura 3-4:** ADN genómico de bovinos extraído en muestras de mucosa bucal, células epiteliales de la nariz y tejido sanguíneo, con la técnica de *salting out*. El ADN separado por electroforesis en gel de agarosa al 1% con colorante EZvision®.



### 3.3.6 Determinación de la calidad del ADN de muestras de células epiteliales bucales, nasales y tejido sanguíneo.

De acuerdo al patrón de fluorescencia con EZvision®, comparado con la fluorescencia de una cantidad de ADN genómico previamente cuantificada. Las muestras fueron evaluadas por la amplificación de un fragmento del gen de prolactina PRL por PCR encontrándose amplificación positiva para este gen (figura 3-5).

**Figura 3-5:** Amplificación por PCR con los *primers* del gen de la prolactina PRL. Una fracción de 10  $\mu$ l se amplificó y se separó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, con colorante EZvision®.



### 3.3.7 Evaluación de la temperatura ambiente (TA), humedad relativa (HR) e índice temperatura humedad (ITH)

En la evaluación de la TA en las horas de la tarde (12:00 m, 12:30 pm, 1:00 pm y 1:30 pm) se encontró diferencia ( $p < 0,0001$ ) entre las 12:00 m (30,3°C) y 1:30 pm (31,4°C). En los meses evaluados presentaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) donde el mes de menor TA fue Julio (27,4°C) presentando diferencias con los otros meses evaluados, mientras los más calurosos fueron Septiembre (30,9 °C) y Agosto (31,3°C).

En la evaluación de la HR se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre las horas de la tarde (12:00 m, 12:30 pm, 1:00 pm y 1:30 pm), donde la menor HR fue a la 1:30 pm (70,1%), con diferencia significativa con las otras horas. Entre los meses se presentó diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ), donde Agosto (69,8%) es el de menor HR, mientras que los meses de abril a julio (77,1 a 78,8%) reportaron la mayor HR sin presentar diferencias significativas entre ellos.

**Tabla 3-2:** Evaluación de la temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) e índice de temperatura humedad (ITH) de los meses de abril a septiembre en las horas del día de 7:00 am a 5:00 pm.

Variable	ABRIL			MAYO			JUNIO			JULIO			AGOSTO			SEPTIEMBRE			
	TA	HR	ITH	TA	HR	ITH	TA	HR	ITH	TA	HR	ITH	TA	HR	ITH	TA	HR	ITH	
7:00	Prom	25,3	90,2	76,4	25,7	89,7	76,9	25,4	88,5	76,3	24,1	89,2	74,2	26,8	82,8	77,9	26,6	82,9	77,6
	EE	0,5	2,1	0,7	0,3	1,2	0,5	0,3	1,0	0,4	0,5	2,3	0,7	0,5	1,5	0,6	0,7	2,2	0,9
8:00	Prom	27,0	90,2	79,1	26,3	90,1	78,0	25,6	91,4	77,1	24,7	88,3	75,0	27,2	83,9	78,7	27,1	84,9	78,6
	EE	0,9	2,8	1,2	0,6	1,4	0,9	0,3	0,9	0,4	0,6	2,5	0,7	0,5	1,5	0,7	0,8	2,2	1,0
9:00	Prom	28,1	87,9	80,6	27,9	86,1	80,0	27,6	87,2	79,7	25,4	86,6	75,7	29,2	77,5	80,8	29,5	77,7	81,1
	EE	0,7	2,7	0,8	0,9	2,2	1,2	0,4	1,9	0,6	1,0	4,2	1,1	0,7	3,4	0,7	1,1	3,6	1,2
10:00	Prom	29,4	82,0	82,0	29,4	80,2	81,4	29,0	81,4	81,3	26,4	84,9	77,3	31,0	71,3	82,6	30,5	75,8	82,5
	EE	0,6	2,3	0,7	0,9	3,1	1,1	0,4	1,8	0,5	1,0	3,8	1,1	0,7	2,5	0,7	1,1	3,1	1,2
11:00	Prom	30,9	76,4	83,5	29,8	77,5	81,6	30,2	77,0	82,5	28,0	77,4	78,7	31,5	70,1	83,5	31,5	71,7	83,1
	EE	0,5	2,3	0,5	0,8	3,6	0,9	0,4	2,2	0,5	1,4	4,8	1,6	0,4	2,1	0,4	1,0	3,9	1,1
12:00	Prom	30,1	77,1	82,4	30,2	77,2	82,5	31,6	73,1	83,8	28,9	76,5	80,0	32,4	67,3	84,2	32,4	70,5	84,4
	EE	0,5	2,2	0,5	0,7	2,4	0,8	0,8	3,4	0,8	1,2	4,7	1,4	0,5	2,1	0,4	1,0	3,7	1,3
1:00	Prom	31,1	73,8	83,3	31,1	74,0	83,4	31,4	74,3	83,9	28,2	77,9	78,9	34,6	60,2	86,0	33,9	67,9	86,3
	EE	1,0	3,0	1,2	0,5	1,8	0,6	0,8	3,4	0,9	1,2	4,8	1,5	0,8	2,2	1,0	1,0	3,3	1,3
2:00	Prom	31,5	69,8	83,2	32,1	71,4	84,4	31,8	72,2	84,0	28,6	77,7	79,7	33,5	57,7	84,1	33,5	65,2	85,3
	EE	0,6	4,3	0,8	0,7	2,4	0,9	0,9	3,8	0,9	1,6	5,0	2,2	0,5	2,4	0,7	0,8	2,8	1,1
3:00	Prom	32,9	65,7	84,4	31,7	70,6	83,7	31,5	72,1	83,7	27,5	79,5	78,3	34,0	60,2	85,0	33,1	63,4	84,4
	EE	1,0	4,9	0,7	0,5	2,1	0,5	0,5	3,3	0,3	1,1	4,2	1,3	0,8	3,2	0,8	0,8	2,6	0,8
4:00	Prom	32,0	68,1	83,8	31,6	69,3	83,5	31,7	72,0	83,8	27,3	79,9	78,0	33,3	59,1	84,0	33,2	64,7	84,7
	EE	0,7	2,9	0,8	0,6	2,8	0,7	0,6	3,5	0,5	1,1	4,1	1,3	0,6	2,6	0,6	0,9	3,0	0,8
5:00	Prom	30,6	73,5	82,6	30,8	71,5	82,5	31,2	73,1	83,4	27,4	81,1	78,5	33,4	59,1	83,9	32,5	66,0	84,0
	EE	0,5	2,6	0,6	0,5	3,2	0,7	0,4	3,4	0,4	0,9	3,9	1,1	0,7	2,9	0,6	0,7	2,4	0,7

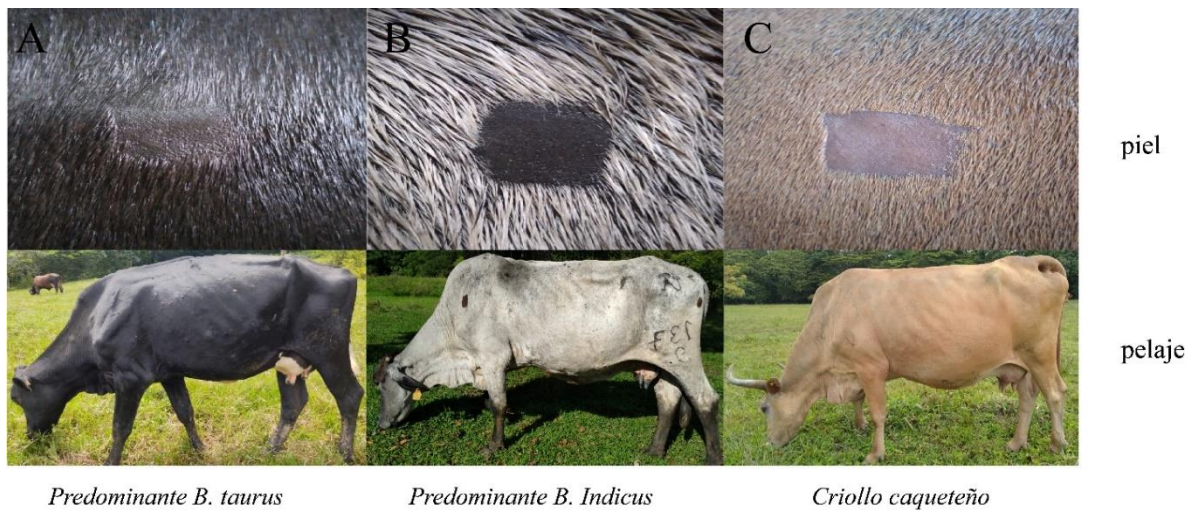


En la evaluación del ITH no se presentaron diferencias significativas entre las horas de la tarde (12:00m, 12:30 pm, 1:00 pm y 1:30 pm) con un ITH promedio de 82, en cuanto a los meses se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ), donde los meses con mayor ITH son Septiembre (82,6) y Agosto (82,9), mientras que los meses con menor ITH son Julio (77,9) y Mayo (81,3). Adicional a la evaluación en las horas de mayor ITH, se realizó un análisis por meses con datos tomados desde las 7:00 am hasta las 5:00 pm por meses. El menor dato de ITH se presentó en el mes Julio a las 7:00 con un valor de 74,2 lo que indica que los animales siempre estaban bajo amenaza de estrés calórico.

### 3.3.8 Color de piel y pelaje en los bovinos.

El color de los pelajes que predominaban se ilustra en la figura 3-6, donde los animales presentaban pigmentación oscura de la piel.

**Figura 3-6:** Colores predominantes de pelaje de bovinos criollos Caqueteños y cruces con *B. indicus* y *B. taurus*.



A: Vaca con más del 50% de su genotipo *Bos taurus*. B: Vaca con más del 50% de su genotipo *Bos indicus*. C: Bovinos criollos Caqueteños.

### 3.3.9 Morfometría del pelo en los bovinos.

Al evaluar las variables longitud, diámetro, densidad y peso del pelo en el anca de los bovinos, se encontró que el criollo Caqueteño presento menores valores existiendo diferencias significativas con los cruces de *B. indicus* y *B. taurus* (tabla 3-3). Al analizar las mismas variables en la cruz del animal el diámetro del pelo no presento diferencia significativa en los tres tipos raciales y en la longitud, densidad y peso si hubo diferencias significativas (tabla 3-3).

En el promedio total la longitud, densidad y peso de pelo presentaron diferencias significativas entre tipos raciales ( $p \leq 0,05$ ), siendo menor la media de las tres variables en el criollo Caqueteño, el diámetro no presento diferencias estadística (tabla 3-3). La longitud del anca es mayor que en la cruz para los tres tipos raciales, el diámetro en el anca y en la cruz presentan diferencias significativas en los tres tipos raciales. Los resultados de la longitud fueron contrarios con los resultados reportados por Botero (2008) en Venezuela, donde el pelo del criollo Caqueteño es medianamente corto ( $\leq 5\text{mm}$ ) en relación a los cruces de *B. taurus* y *B. indicus* ( $\geq 5,1\text{ mm}$ ) (tabla 3-3). Para las tres variables los pelos en la cruz y anca presentaron menores valores en el Caqueteño (tabla 3-3).

**Tabla 3-3:** Medidas morfométricas del pelo de bovinos de cruces con mayor incidencia de *Bos taurus* o *Bos indicus* y de la raza criollo Caqueteño.

Morfometría del Pelo	Anca			Cruz			Total		
	<i>B. taurus</i>	<i>B. indicus</i>	Caqueteño	<i>B. taurus</i>	<i>B. indicus</i>	Caqueteño	<i>B. taurus</i>	<i>B. indicus</i>	Caqueteño
Longitud <sup>1</sup>	6,4±0,3 <sup>b</sup>	6,6±0,41 <sup>c</sup>	5,26±0,1 <sup>a</sup>	6,1±0,3 <sup>b</sup>	6,3±0,5 <sup>c</sup>	4,8±0,21 <sup>a</sup>	6,3±0,3 <sup>b</sup>	6,4±0,7 <sup>b</sup>	5,0±0,14 <sup>a</sup>
Diámetro <sup>2</sup>	50,4±1,9 <sup>b</sup>	53,4±2,6 <sup>c</sup>	49,3±1,6 <sup>a</sup>	54,9±3,4 <sup>a</sup>	54,5±3,3 <sup>a</sup>	55,8±2,48 <sup>b</sup>	52,6±1,9 <sup>a</sup>	53,9±2,6 <sup>a</sup>	52,5±1,8 <sup>a</sup>
Densidad <sup>3</sup>	1381,3±53 <sup>c</sup>	1335,9±29 <sup>b</sup>	925,3±31 <sup>a</sup>	1168,4±112 <sup>b</sup>	1206,2±96 <sup>c</sup>	782,3±56 <sup>a</sup>	1274,85±78 <sup>b</sup>	1271,1±58 <sup>b</sup>	853,8±38 <sup>a</sup>
Peso <sup>4</sup>	1,03±0,1 <sup>b</sup>	1,05±0,0 <sup>c</sup>	1,02±0,003 <sup>a</sup>	1,02±0,004 <sup>b</sup>	1,04±0,01 <sup>c</sup>	1,02±0,003 <sup>a</sup>	1,03±0,004 <sup>ab</sup>	1,04±0,01 <sup>b</sup>	1,02±0,003 <sup>a</sup>

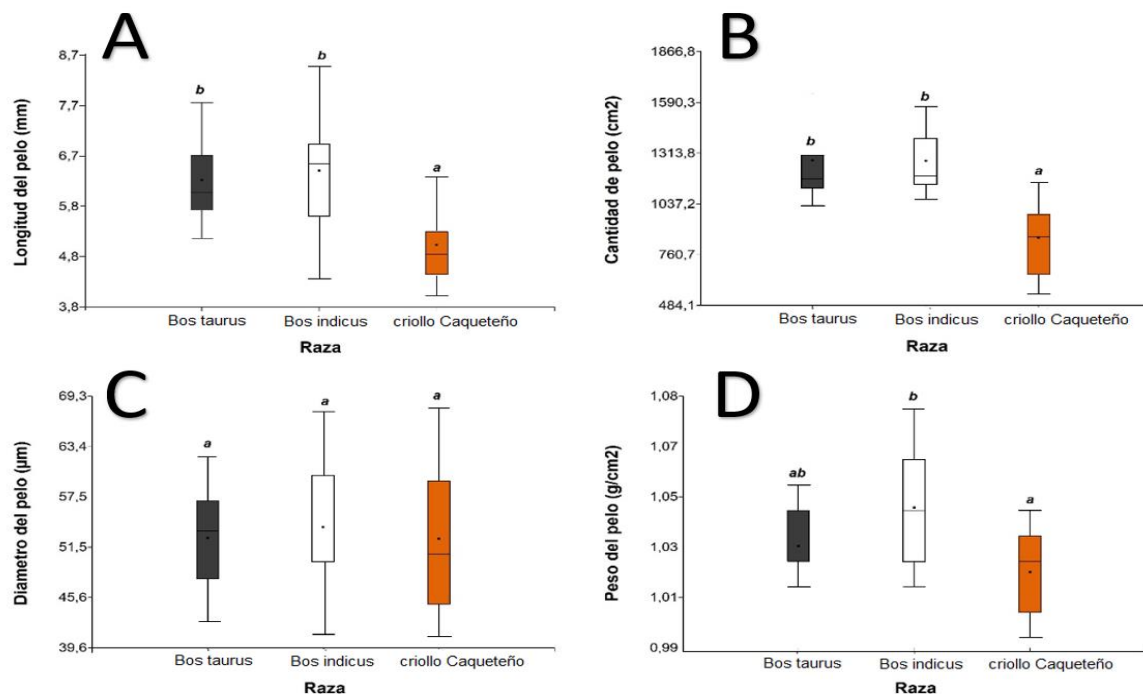
<sup>1</sup> Longitud del pelo en mm; <sup>2</sup> Diametro del pelo en  $\mu\text{m}$ ; <sup>3</sup> Densidad del pelo unidades/cm<sup>2</sup>; <sup>4</sup> Peso del pelo g/cm<sup>2</sup>. Distinta letra en la fila representa diferencia significativa ( $\geq 0,05$ ) entre grupos raciales

La evaluación de la TS presentó diferencias significativas entre las horas ( $P < 0,0001$ ), donde la hora de la mañana (7:00 am) presenta la menor TS (32,8 °C), por otro lado, las horas de la tarde (12:00 m, 12:30 pm, 1:00 pm y 1:30pm) reportan las mayor TS (38 a 38,3 °C) sin presentar diferencias significativas entre ellas. Por otra parte, los meses reportan diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre Julio (36,1 °C) y los meses de Mayo (37,6 °C) y Junio (37,7 °C).

En la evaluación de la FR se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre las 7:00 am (24,4 rpm) y las horas de la tarde (12:00 m, 12:30 pm, 1:00 pm y 1:30pm) que reportaron una FR de 39,1 a 41,8 rpm, de igual manera se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre los meses, donde Abril (44,5 rpm) reporta la mayor FR, mientras que Agosto (31,1 rpm) fue el mes con menor FR.

Los criollos Caqueteños presentaron menor densidad de pelos por  $\text{cm}^2$ , presentando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) con los cruces de *B. indicus* y *B. taurus* (figura 3-6B). En términos generales se encontró que los bovinos evaluados poseen mayor densidad de pelos en el anca que en el alto de cruz (tabla 3-3). Los pelos ubicados en la cruz de los animales son más pesados que los del anca (tabla 3-3); el diámetro del pelo no presentó diferencias significativas entre tipos raciales ( $p < 0,05$ ) (figura 3-6C), pero los pelos de la cruz presentaron mayor diámetro que los del anca (tabla 3-3).

**Figura 3-7:** Longitud, diámetro, densidad y peso de pelos de bovinos cruzados con mayor incidencia de *Bos taurus* o *Bos indicus* y de la raza criollo Caqueteño.



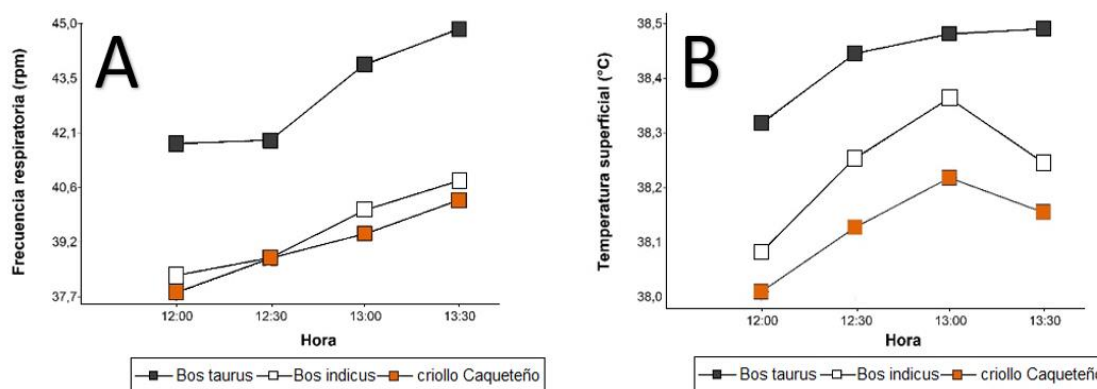
El peso del pelo en los criollos Caqueteños es más liviano presentando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con los *B. indicus*. Entre los *B. taurus* y *B. indicus* no se encontró diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) (figura 3-7D).

### 3.3.10 Temperatura superficial y frecuencia respiratoria como indicadores del estrés calórico en bovinos.

Las máximas temperaturas se presentaron entre las 12:00 y 13:30, variando de  $31,1 \pm 0,05$  a  $32,1 \pm 0,06$ . La humedad relativa osciló entre  $69,4 \pm 0,19$  y  $73,2 \pm 0,19$  (tabla 3-2). La frecuencia respiratoria siempre fue superior en los cruces con *B. taurus* (42,1 – 45,0 rpm) presentando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con los cruces con *B. indicus* (37,8 – 40,6 rpm) y los Caqueteños a pesar de ser descendientes del *B. taurus* presentó la menor FR (37,7 – 40,0 rpm) (figura 3-8A). La temperatura superficial en los bovinos con mayor porcentaje de *B. taurus* siempre expresaban valores superiores (38,3 y 38,5 °C)

presentando diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) con los Caqueteños. Los cruces con *B. indicus* (38,1 y 38,3°C) y los Caqueteños (38,0 y 38,2°C) no presentaron diferencia significativa y entre los *B. taurus* y *B. indicus* no presentaron diferencia significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre las 12:00 y las 13:00 (figura 3-8B).

**Figura 3-8:** Temperatura superficial (°C) y frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto) en bovinos de la raza criollo Caqueteño, y tipos raciales *B. taurus* y *B. indicus*



**Tabla 3-4** Horas del día de mayor temperatura ambiental (°C) y su incidencia en la frecuencia respiratoria (rpm) y temperatura superficial (°C) del animal

VARIABLE AMBIENTAL	HORA							
	12:00		12:30		13:00		13:30	
HR (%)	73,2 ±0,19		70,2±0,19		70,5±0,20		69,4±0,19	
TA (°C)	31,1±0,05		31,6±0,06		32,0±0,06		32,1±0,06	
GRUPO	FR**	TS***	FR**	TS***	FR**	TS***	FR**	TS***
Cruces <i>B. taurus</i>	41,81±0,4 <sup>b</sup>	38,32±0,1 <sup>b</sup>	41,88±0,4 <sup>b</sup>	38,46±0,09 <sup>b</sup>	38,50±0,09 <sup>b</sup>	43,92±0,4 <sup>b</sup>	44,84±0,4 <sup>b</sup>	38,51±0,1 <sup>b</sup>
Cruces <i>B. indicus</i>	38,28±0,3 <sup>a</sup>	38,06±0,09 <sup>ab</sup>	38,75±0,3 <sup>a</sup>	38,25±0,09 <sup>ab</sup>	38,37±0,09 <sup>ab</sup>	40,02±0,3 <sup>a</sup>	40,8±0,3 <sup>a</sup>	38,24±0,08 <sup>a</sup>
Caqueteño	37,83±0,2 <sup>a</sup>	37,98±0,06 <sup>a</sup>	38,74±0,2 <sup>a</sup>	38,11±0,06 <sup>a</sup>	38,21±0,60 <sup>a</sup>	39,39±0,2 <sup>a</sup>	40,29±0,2 <sup>a</sup>	38,14±0,06 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan en promedio y error estándar, \* Letras diferentes en la misma columna hay diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), \*\* frecuencia respiratoria (rpm), \*\*\* temperatura superficial (°C)

### 3.3.11 Análisis de componentes principales de las medidas morfométricas del pelo y su incidencia en la frecuencia respiratoria y temperatura superficial.

El análisis de componentes principales (ACP) formo cinco grupos, que explican el 97,7% de la varianza total (tabla 3-5). Los tres primeros componentes principales (CP) explicaron el 79,9% de la variación, el CP1 se identificó como variables fisiológicas y explico el 42,7% de la variabilidad, el CP2 se reconoció como el peso del pelo explicando el 21,2% de la variación. El CP3, se reconoció como diámetro del pelo explicando 16,0% de la variación.

**Tabla 3-5:** Matriz de componentes principales de morfométria del pelo y variables fisiológicas de bovinos criollo Caqueteño, cruces raciales *B. taurus* y *B. indicus*.

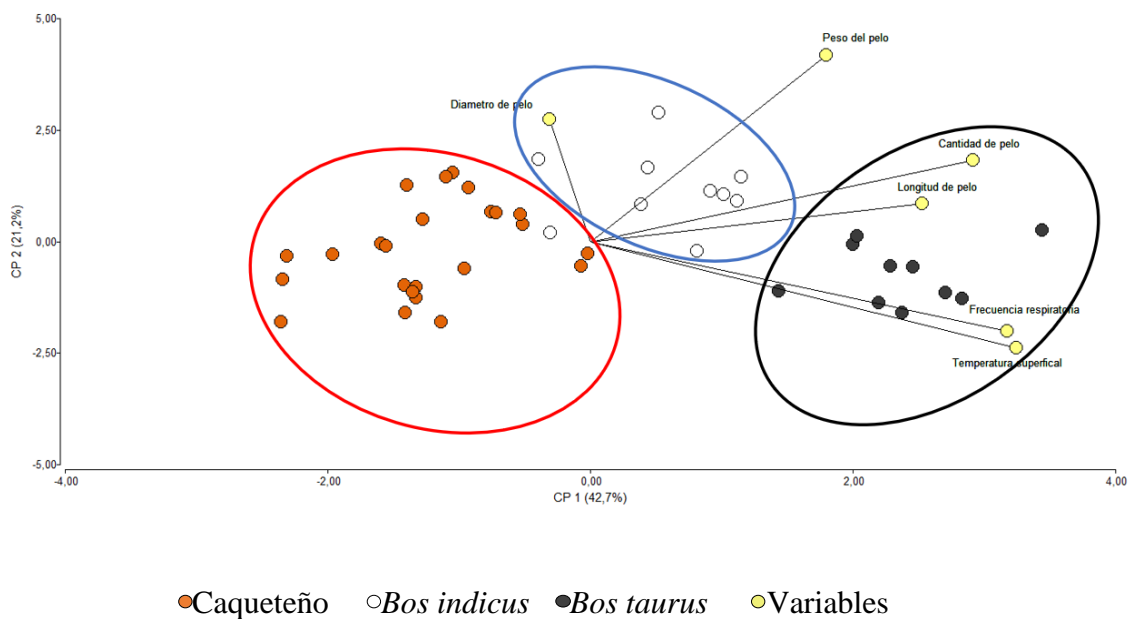
Variabes	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Peso de pelo	0,29	0,67	-0,27	-0,13	-0,6
Densidad de pelos	0,47	0,29	-0,29	-0,26	0,73
Longitud de pelo	0,41	0,14	0,16	0,87	0,05
Diámetro de pelo	-0,05	0,44	0,86	-0,2	0,13
Temperatura superficial	0,52	-0,38	0,2	-0,05	-0,08
Frecuencia respiratoria	0,51	-0,32	0,18	-0,35	-0,28
Varianza (%)	42,7	21,2	16,0	11,6	6,2
Acumulado (%)	42,7	63,9	79,9	91,5	97,7

El componente uno representa las variables temperatura superficial, frecuencia respiratoria, longitud y densidad de pelo que son las que más se relacionan, por lo tanto, las dos últimas que son variables morfométricas influyen mayoritariamente en los cambios de las variables fisiológicas.

En el Biplot de las variables morfométricas del pelo, las variables fisiológicas y los grupos raciales (figura 3-9), evidencian un distanciamiento de los bovinos criollos Caqueteños con los cruces de los *B. indicus* y *B. taurus*, las variables fisiológicas frecuencia respiratoria y temperatura superficial y los morfométricos densidad (pelos/cm<sup>2</sup>) y longitud (mm), están asociadas los mayores valores a los animales *B. taurus* y los mayores diámetros del pelo están asociados a los *B. indicus*, lo que indica que los menores valores de frecuencia

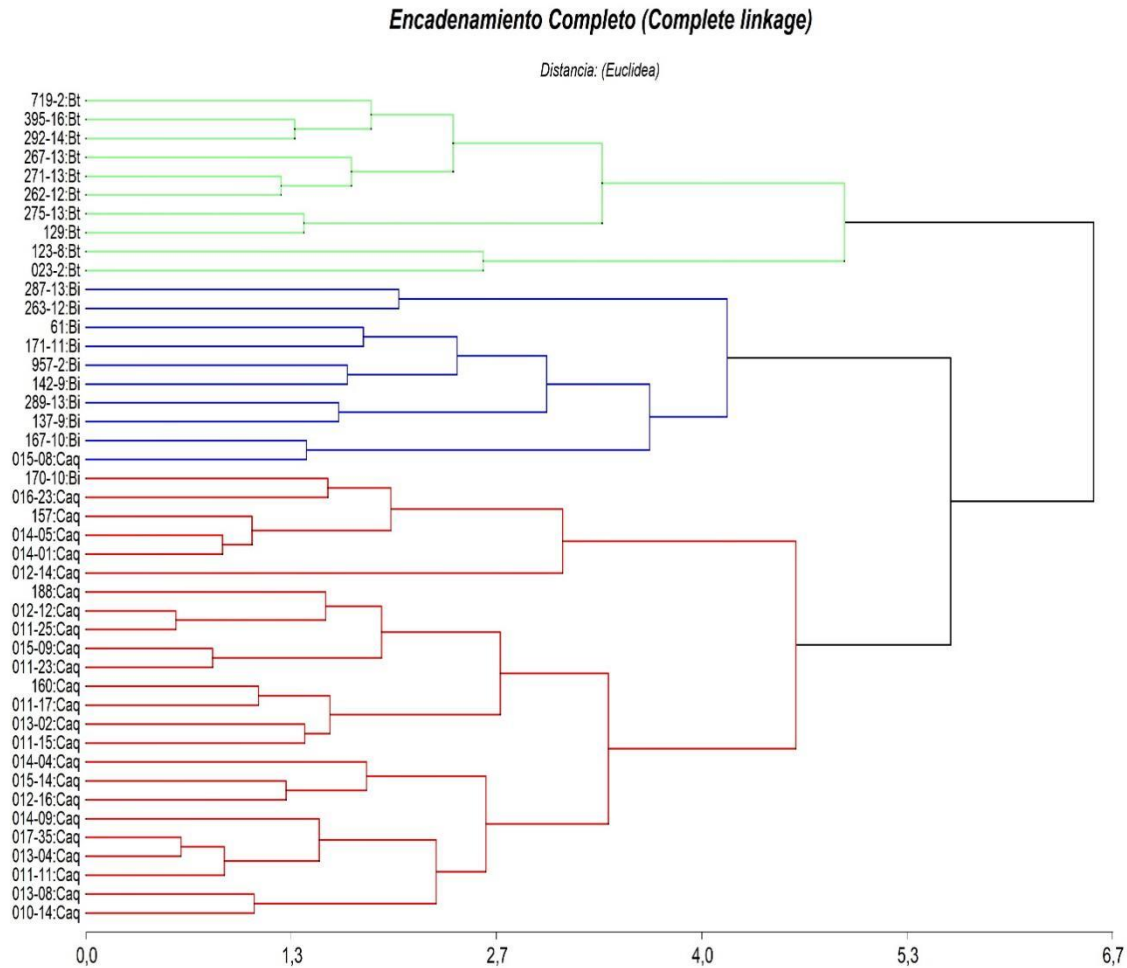
respiratoria, temperatura superficial, densidad, longitud y diámetro del pelo se relacionan con los criollos Caqueteños.

**Figura 3-9:** Biplot de variables morfométricas del pelo y fisiológicas bovinos de la raza criollo Caqueteño y tipos raciales *B. taurus* y *B. indicus*.



Al evaluar las variables fisiológicas relacionadas con el estrés calórico, las medidas morfométricas con los tipos raciales se presentan claramente distanciamientos, encontrándose que la mayor es entre los Caqueteños y los *B. taurus* (figura 3-9). El análisis de conglomerados realizados para determinar distancia euclídea de los animales de los grupos raciales evaluados teniendo en cuenta las variables medidas morfométricas del pelo y variables fisiológicas identificó claramente tres grandes cluster o grupos de tipos raciales los *B. taurus* y los *B. indicus*; el otro grupo son los criollos Caqueteño (figura 3-10).

**Figura 3-10:** Dendrograma y distancia euclídea de los valores de las variables morfométricas del pelo, frecuencia respiratoria y temperatura superficial de bovinos de la raza criollo Caqueteño, tipos raciales *B. taurus* y *B. indicus*.



### 3.3.12 Incidencia de las características morfométricas y moleculares sobre la frecuencia respiratoria y temperatura superficial que expresan estrés calórico.

Se encontró correlación positiva moderada y alta entre la temperatura superficial del pelaje del animal con la longitud (0,53) y la densidad de pelos por  $\text{cm}^2$  (0.63) y correlación negativa baja con el diámetro (-0,29); similar situación se presentó entre la frecuencia respiratoria con la longitud (0,46), la densidad de pelos por  $\text{cm}^2$  (0,56) y diámetro (-0,37).



**Tabla 3-6:** Análisis de correlaciones de Pearson para las variables de morfometría del pelo y fisiológicas a la 1:00 pm.

Variables	MORFOMETRIA DEL PELO				FISIOLÓGICAS	
	Peso (g/cm <sup>2</sup> )	Densidad (unid/cm <sup>2</sup> )	Diámetro (μm)	Longitud (mm)	TS (°C)	FR (rpm)
Peso	1	***	ns	***	ns	ns
Densidad	0,55	1	ns	***	**	***
Diámetro	0,1	-0,07	1	ns	ns	ns
Longitud	0,51	0,56	-0,13	1	**	*
TS	0,17	0,63	-0,29	0,53	1	***
FR	0,18	0,56	-0,37	0,46	0,51	1

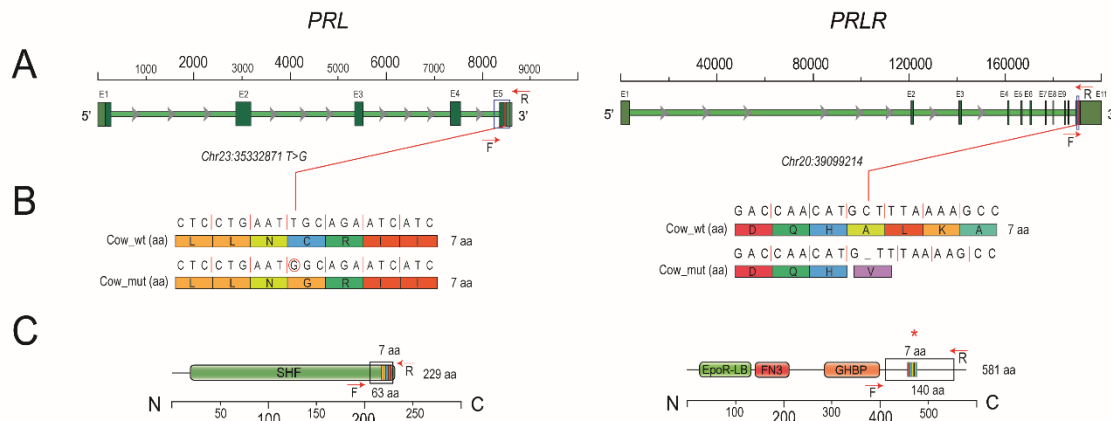
ns: no significativo, \*: p<0,05, \*\*:p<0,01, \*\*\*:p<0,001.

En el análisis de correlaciones se encuentra la asociación entre las variables longitud con la variable fisiológica TS, la densidad presenta correlación con la TS y la FR, de igual manera se presenta una correlación altamente significativa entre las variables fisiológicas.

### 3.3.13 Caracterización de amplicones PRL y PRLR.

Teniendo en cuenta las funciones primordiales de la cascada de señalización de la prolactina en el ciclo y crecimiento del folículo en los bovinos (Morris *et al.*, 2011), se consideró que el PRL y PRLR son genes candidatos para identificar variaciones a nivel molecular implicados en el crecimiento del pelo y así mismo establecer una relación directa con el estrés calórico presente en este tipo de mamíferos. Se caracterizaron amplicones de 392 pb para el PRL y 506 pares de bases (pb) para PRLR (figura 3-11). La selección de los primers se realizaron teniendo en cuenta que incluyeran los sitios donde se presentaban las mutaciones relacionadas con cambio en las características del pelo asociadas al estrés calórico en bovinos (Littlejohn *et al.*, 2014).

**Figura 3-11:** Caracterización de la secuenciación de los genes de la Prolactina (PRL) y su receptor (PRLR)



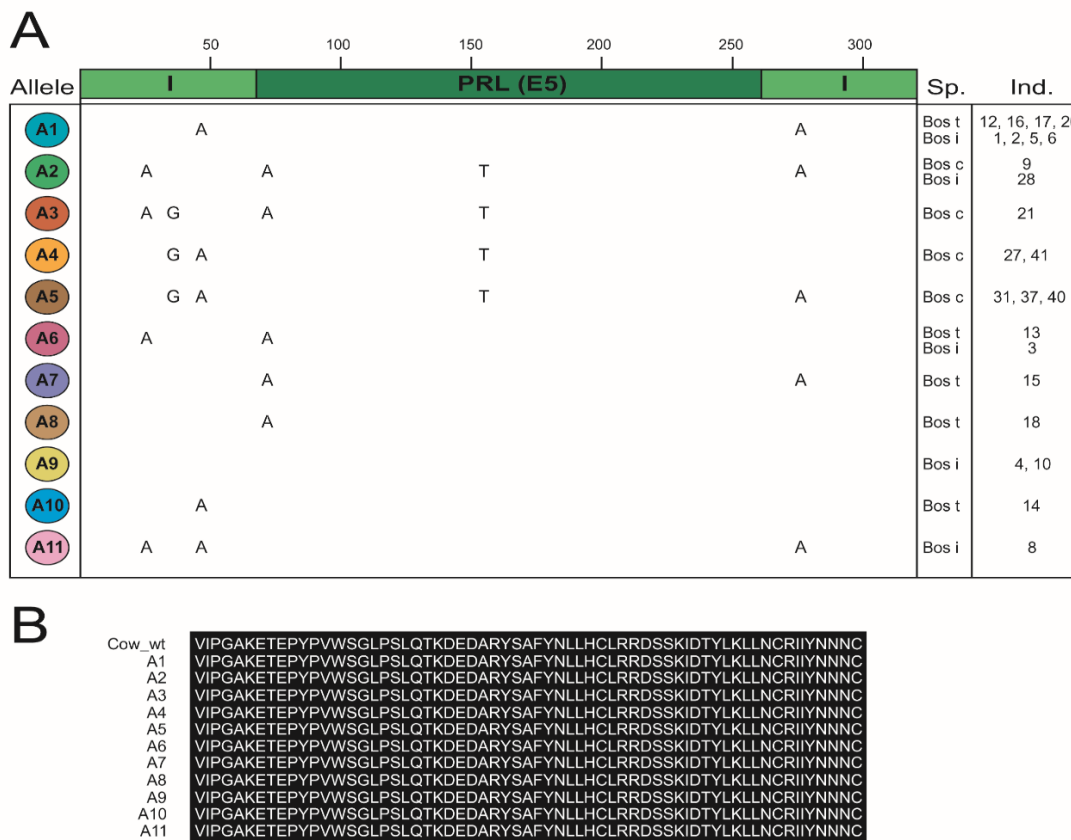
**(A)** Estructura primaria de los genes PRL y PRLR, donde se muestra la zona amplificada.

**(B)** F: Forward Primer; R: Reverse Primer; E: Exón; nt: Nucleótidos. **(B)** región de los genes y la proteína Prolactina, mostrando las ubicaciones de las mutaciones del PRL (T > G) y (Cys > Gly) y estructura primaria de la proteína codificada por PLR; región del gen PRLR y la proteína Prolactina receptora, mostrando ubicaciones de las mutaciones (C > I) y (Ala > Val). **(C)** SHF, dominio encargado de la unión con el receptor PRLR y Estructura primaria de la proteína codificada por PLR. Epor-LB y FN3 dominios intracelulares encargados de la emisión de señales. GHBP, dominio encargado de la unión con el ligando PRL.

### 3.3.14 Distribución y análisis de sitios polimórficos.

Al caracterizar las secuencias de PRL se identificaron 6 sitios polimórficos representados en once alelos, de los cuales, 3 (50%) corresponden a transiciones de nucleótidos (Purina/purina o pirimidina/pirimidina), y 3 (50%) corresponden a transversiones de nucleótidos (Purina/pirimidina o viceversa). De estos 6 sitios polimórficos, dos están ubicados en la región codificante (Exón) de la zona amplificada, los cuatro restantes se encuentran ubicados en la zona intrónica del gen, siendo la zona 5' la que está representada con más sitios polimórficos en comparación con la posición intrónica 3' (figura 3-12).

**Figura 3-12:** Sitios polimórficos de PRL con relación a secuencias de aminoácidos.



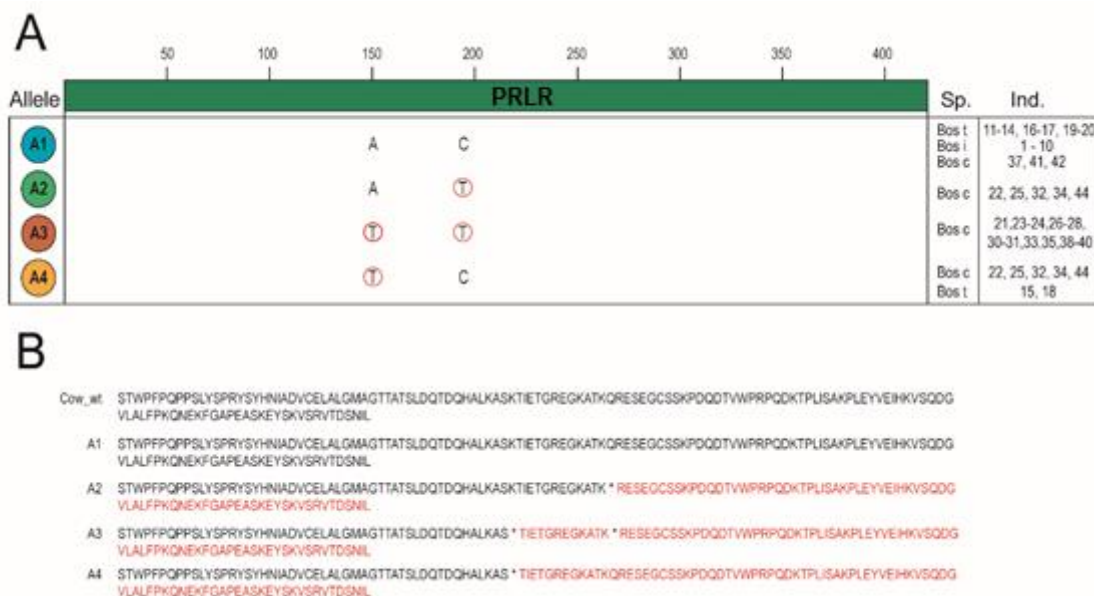
(A) Distribución de sitios polimórficos en secuencias de PRL. Cada alelo es representado por un color diferente y las letras dentro de cada uno es el número de los distintos alelos. I, Intrón; E, Exón; Sp, Especie. (B) Alineamiento de secuencias de aminoácidos codificadas por cada uno de los alelos.

Se inició secuenciación para 44 muestras de PRL, lamentablemente solo se secuenciaron 24, sin embargo en resultado algunas muestras a pesar de ser amplificado mediante beta globina, el análisis de la secuenciación no permitió hacer una definición clara de la secuencia, por razones de calidad de la muestra el amplificado no fue posible secuenciarlo adecuadamente, por lo tanto, solamente se tuvieron en cuenta para el análisis de la secuencia y el estudio de la filogenia aquellas muestras que tuvieron una señales adecuadas para poder interpretar adecuada y complemente la secuencia del gen. Se presumió degradación de los primers, la situación persistía, para lo cual se presumió degradación del ADN, la situación persistió, en contacto con el instituto de genética de la

Universidad Nacional enfatizaron en agudizar la esterilización de materiales y purificación del ADN y solicitaron enviar las muestras en las concentraciones bajas que ellos establecían en los protocolos, a pesar de esos ajustes la dificultad persistió, por lo tanto se presumió heterocigocidad alélica que no permitía la secuenciación por los ruidos que se generaban.

En el caso del gen receptor (PRLR), se identificaron dos sitios polimórficos en cuatro alelos, ubicados hacia la posición 5' de la región codificante. De estas, el 50% corresponde a transiciones de nucleótidos y el otro 50% corresponde a transversiones de nucleótidos (figura 3-13).

**Figura 3-13:** Sitios polimórficos de PRLR con relación a secuencias de aminoácidos.



(A) Distribución de sitios polimórficos en secuencias de PRLR. Cada alelo es representado por un color diferente, y las letras dentro de cada uno es el número de los distintos alelos. E, Exón; Sp, Especie. Los círculos rojos representan cambio en los nucleótidos (B). Alineamiento de secuencias de aminoácidos codificadas por cada uno de los alelos. El asterisco representa la lectura de los codones de finalización. Las letras en rojo representan la pérdida de secuencias.

### 3.3.15 Relaciones filogenéticas basadas en regiones PRL y PRLR.

Los análisis filogenéticos de inferencia bayesiana (IB) y de máxima verosimilitud (ML) fueron deducidos a partir de las secuencias de datos de las regiones amplificadas de los 11 y 4 alelos de PRL (392 pb y PRLR (506 pb) respectivamente. Los resultados en PRL arrojaron topologías idénticas y bien soportadas para los 44 individuos evaluados (Bootstrap=100). El linaje A está representado por un único alelo (A10). El linaje B, donde se agrupan el resto de los Alelos, se divide en dos clados. El clado I como ramificación temprana del linaje B, agrupando los alelos A3, A4 y A5, los cuales pertenecen exclusivamente a individuos de la raza criolla Caqueteña. El clado II, siendo el más diverso, abarca los cruces de las razas representadas en 7 alelos diferentes, donde se evidencian orígenes polifiléticos de *Bos taurus* y *Bos indicus* (figura 3-14A).

En el caso de las relaciones filogenéticas inferidas a partir de secuencias de PRLR, estas mostraron orígenes polifiléticos de razas criollas las cuales se representan en los cuatro alelos identificados. El linaje A, del PRL el más basal que muestra la topología, se agrupan los individuos que tienen el alelo 1, ratificando de esta manera un origen monofilético de estos individuos que lo portan. El linaje B del PRLR se divide en dos clados estadísticamente soportados. El clado I se subdivide y agrupa los alelos A3 y A4. Mientras que el clado I muestra que el Alelo A2 es filogenéticamente basal (figura 3-14B).

**Tabla 3-7:** Asociación del polimorfismo del gen de la prolactina (PRL) y su receptor (PRLR) con variables morfométricas del pelo y fisiológicas evaluadas a la 1:00pm.

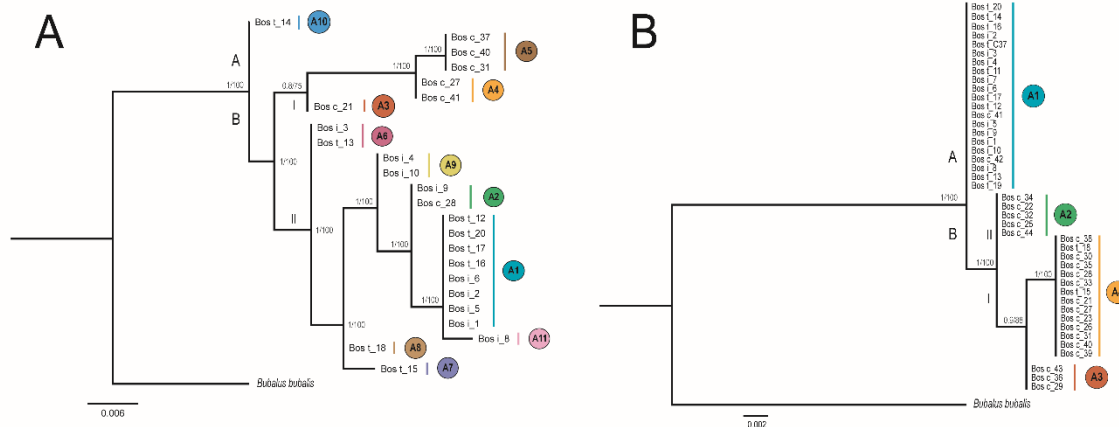
Grupo Racial	Alelo	N	%	Variables morfométricas del pelo								Variables fisiológicas			
				Longitud <sup>1</sup>		Densidad <sup>2</sup>		Peso <sup>3</sup>		Diametro <sup>4</sup>		TS <sup>5</sup>		FR <sup>6</sup>	
				Prom	EE*	Prom	EE*	Prom	EE*	Prom	EE*	Prom	EE*	Prom	EE*
<b>GEN DE LA PROLACTINA (PRL)</b>															
<i>B. taurus</i>	A1	4	44	6,27	0,44 <sup>abc</sup>	1145,8	107,00 <sup>ab</sup>	1,02	0,01 <sup>ab</sup>	53,2	3,29 <sup>ab</sup>	37,1	0,05 <sup>e</sup>	37,8	0,28 <sup>c</sup>
	A3	1	11	4,32	0,88 <sup>a</sup>	976,0	213,99 <sup>a</sup>	1,01	0,02 <sup>ab</sup>	55,4	6,59 <sup>ab</sup>	36,6	0,10 <sup>ab</sup>	34,6	0,56 <sup>a</sup>
	A6	1	11	6,13	0,88 <sup>abc</sup>	1804,0	213,99 <sup>b</sup>	1,05	0,02 <sup>abc</sup>	42,8	6,59 <sup>a</sup>	37,0	0,10 <sup>cde</sup>	37,6	0,56 <sup>c</sup>
	A7	1	11	5,14	0,88 <sup>ab</sup>	1144,5	213,99 <sup>ab</sup>	1,02	0,02 <sup>ab</sup>	50,0	6,59 <sup>ab</sup>	37,0	0,10 <sup>de</sup>	37,2	0,56 <sup>bc</sup>
	A8	1	11	5,61	0,88 <sup>ab</sup>	1203,0	213,99 <sup>ab</sup>	1,02	0,02 <sup>ab</sup>	56,1	6,59 <sup>ab</sup>	37,0	0,10 <sup>cde</sup>	37,6	0,56 <sup>c</sup>
	A10	1	11	6,75	0,88 <sup>abc</sup>	1265,0	213,99 <sup>ab</sup>	1,04	0,02 <sup>abc</sup>	56,3	6,59 <sup>ab</sup>	37,1	0,10 <sup>de</sup>	37,5	0,56 <sup>c</sup>
<i>B. indicus</i>	A1	4	44	6,14	0,44 <sup>abc</sup>	1243,1	107,00 <sup>ab</sup>	1,04	0,01 <sup>abc</sup>	49,4	3,29 <sup>a</sup>	36,8	0,05 <sup>bcd</sup>	35,1	0,28 <sup>a</sup>
	A2	1	11	8,48	0,88 <sup>c</sup>	1393,0	213,99 <sup>ab</sup>	1,06	0,02 <sup>bc</sup>	42,5	6,59 <sup>a</sup>	36,6	0,10 <sup>ab</sup>	35,7	0,56 <sup>ab</sup>
	A6	1	11	6,48	0,88 <sup>abc</sup>	1201,5	213,99 <sup>ab</sup>	1,03	0,02 <sup>abc</sup>	67,5	6,59 <sup>b</sup>	36,6	0,10 <sup>a</sup>	34,8	0,56 <sup>a</sup>
	A9	2	22	5,51	0,62 <sup>ab</sup>	1315,5	151,32 <sup>ab</sup>	1,04	0,01 <sup>abc</sup>	59,0	4,66 <sup>ab</sup>	36,7	0,07 <sup>ab</sup>	35,4	0,40 <sup>a</sup>
	A11	1	11	7,4	0,88 <sup>bc</sup>	1369,0	213,99 <sup>ab</sup>	1,08	0,02 <sup>c</sup>	52,9	6,59 <sup>ab</sup>	36,6	0,10 <sup>a</sup>	34,8	0,56 <sup>a</sup>
Caqueteño	A2	1	17	6,34	0,88 <sup>abc</sup>	1101,0	213,99 <sup>a</sup>	1,02	0,02 <sup>ab</sup>	43,3	6,59 <sup>a</sup>	36,8	0,10 <sup>abcd</sup>	34,7	0,56 <sup>a</sup>
	A4	2	33	4,61	0,62 <sup>a</sup>	907,3	151,32 <sup>a</sup>	1,01	0,01 <sup>a</sup>	54,3	4,66 <sup>ab</sup>	36,8	0,07 <sup>abc</sup>	35,3	0,40 <sup>a</sup>
	A5	3	50	4,91	0,51 <sup>a</sup>	911,0	123,55 <sup>a</sup>	1,02	0,01 <sup>ab</sup>	59,1	3,80 <sup>ab</sup>	36,6	0,06 <sup>ab</sup>	34,8	0,33 <sup>a</sup>
<b>GEN RECEPTOR DE LA PROLACTINA (PRLR)</b>															
<i>B. taurus</i>	A1	8	80	6,5	0,29 <sup>b</sup>	1300,13	74,29 <sup>c</sup>	1,03	0,01 <sup>bc</sup>	52,5	2,82 <sup>a</sup>	38,5	0,06 <sup>c</sup>	44,0	0,32 <sup>c</sup>
	A4	2	20	5,38	0,57 <sup>ab</sup>	1173,75	148,57 <sup>bc</sup>	1,02	0,01 <sup>abc</sup>	53,1	5,65 <sup>a</sup>	38,4	0,12 <sup>abc</sup>	43,7	0,65 <sup>c</sup>
<i>B. indicus</i>	A1	10	100	6,45	0,26 <sup>b</sup>	1271,05	66,44 <sup>c</sup>	1,04	0,01 <sup>c</sup>	53,9	2,53 <sup>a</sup>	38,4	0,05 <sup>bc</sup>	40,0	0,28 <sup>b</sup>
Caqueteño	A1	3	12	5,36	0,23 <sup>a</sup>	867,92	60,6 <sup>ab</sup>	1,02	0,01 <sup>ab</sup>	53,3	2,31 <sup>a</sup>	38,3	0,05 <sup>ab</sup>	39,5	0,52 <sup>ab</sup>
	A2	5	21	4,7	0,36 <sup>a</sup>	787,3	93,97 <sup>a</sup>	1,02	0,01 <sup>ab</sup>	55,4	3,57 <sup>a</sup>	38,1	0,08 <sup>a</sup>	40,0	0,40 <sup>b</sup>
	A3	4	17	4,51	0,40 <sup>a</sup>	869,38	105,06 <sup>ab</sup>	1,01	0,01 <sup>a</sup>	44,2	3,99 <sup>a</sup>	38,2	0,09 <sup>ab</sup>	39,8	0,45 <sup>ab</sup>
	A4	12	50	4,76	0,47 <sup>a</sup>	887,67	121,31 <sup>ab</sup>	1,02	0,01 <sup>ab</sup>	55,8	4,61 <sup>a</sup>	38,2	0,10 <sup>ab</sup>	39,0	0,52 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup>Longitud del pelo (mm), <sup>2</sup>Densidad del pelo (pelos/cm<sup>2</sup>), <sup>3</sup>Peso del pelo (g/cm<sup>2</sup> de pelos), <sup>4</sup>Diametro del pelo (μm), <sup>5</sup>TS= temperatura superficial (°C), <sup>6</sup>FR= frecuencia respiratoria (respiraciones por minuto), Prom= promedio, EE= error estándar  
\* Letras diferentes en la misma columna hay diferencia significativa (P≥0,05).

En la asociación de alelos con las características morfométricas y fisiológicas, para el gen PRL se encontró que los alelos A3, A4 y A5 se asocian a longitudes del pelo inferiores a 5 mm, los alelos A2 y A11 en los *B. indicus* se asocian a las mayores longitudes del pelo de 7,4 a 8,48 mm.

En el gen receptor de la prolactina (PRLR) en bovino criollo Caqueteño se encontraron cuatro polimorfismos, el alelo A1 se encontró en el 12,5% de los animales, el A2 en el 20.8%, el A3 en el 16.6% y el A4 en el 50% de los individuos. Los alelos que se asocian con la menor longitud fueron los A2, A3 y A4, expresando longitudes inferiores a 5mm. Los criollos Caqueteños presentaron menor FR y TS expresando diferencia significativa con los *B. taurus* que presentaban el alelo A1. El grupo de los *B. indicus* solo expresó el alelo A1, el cual está asociado a mayor longitud; y presentó diferencias significativas con el criollo Caqueteño para las variables longitud y densidad del pelo, de igual manera presenta diferencias con el *Bos taurus* para FR. El grupo de los *B. taurus* presentó los alelos A1 (80% de los animales) y A4 (el 20 %), con diferencias significativas para la variable longitud, densidad y TS entre el alelo A1 y los criollos Caqueteño, por otra parte, los alelos A1 y A4 del grupo *B. taurus* presenta diferencias significativas con el criollo Caqueteño para la FR.

**Figura 3-14:** Relaciones filogenéticas del ganado criollo Caqueteño y animales con cruces raciales de mayor tendencia *B. taurus* o de mayor tendencia hacia *B. indicus* inferidas a partir de secuencias de nucleótidos de PRL y PRLR del genoma nuclear.



(A) Relaciones filogenéticas del ganado criollo Caqueteño y animales con cruces raciales de mayor tendencia *B. taurus* o de mayor tendencia hacia *B. indicus* inferidas a partir de secuencias de nucleótidos de PRL del genoma nuclear. (B) Relaciones filogenéticas del ganado criollo Caqueteño y animales con cruces raciales de mayor tendencia *B. taurus* o de mayor tendencia hacia *B. indicus* y las de inferidas a partir de secuencias de nucleótidos de PRLR del genoma nuclear.

### 3.4 Discusión.

El uso de técnicas de muestreo menos invasivo, a pesar de que busca disminuir el dolor pueden producir errores en la genotipificación de individuos (Nardelli *et al.*, 2011), debido a las pequeñas cantidades que se obtienen de ADN, a la contaminación entre los individuos, degradación de muestra por larga exposición a medio ambiente, presencia de inhibidores a la PCR (Hoffman & Amos, 2005); como estrategia de laboratorio para reducir el margen de error se realizaron varios frotis para obtener suficientes muestras de tejidos epiteliales bucales y nasales; las muestras tomadas se procesaron rápidamente y adicionalmente se realizaron precipitaciones o purificaciones al ADN (Broquet *et al.*, 2007).

En la fase inicial se realizó un pre ensayo para la toma de muestra de células epiteliales de la nariz, se usaron dos utensilios para extraer la muestra, aplicadores de madera con punta de algodón y cepillos para citología, en los aplicadores con algodón se dificultaba retirar la muestra y las concentraciones de ADN fueron inferiores a las realizadas con cepillo para citología, razón por la que se seleccionó el cepillo para citología como el insumo apropiado para la toma de la muestra a nivel nasal.

Para toma de muestras de tejido sanguíneo se utilizó el kit de vacutainer (tubo, aguja de protección y funda) requerido para la toma de la muestra de sangre, en la fase inicial se desarrolló otro pre ensayo donde se utilizaron tres tipos de tubos vacutainer, seis tubos sin anticoagulante, seis con heparina sódica como anticoagulante, seis con EDTA como anticoagulante, donde se encontró que las muestras que no tenían anticoagulante no fue posible extraerle ADN, de los tubos que contenían heparina sódica se extrajo ADN pero no amplificaron en la PCR, por lo tanto todas las muestras se tomaron con tubos que contenían EDTA debido a que presentó buenas concentraciones de ADN que amplificaron en la PCR (Neary *et al.*, 2014).

El uso del espectrofotómetro para estimar concentración de ADN por absorbancia es una metodología confiable (Vargas *et al.*, 2006), la absorbancia es un elemento que permite determinar las concentraciones de ADN, debido a que absorbe radiación ultravioleta por los puentes de hidrógeno entre las bases nitrogenadas (Baena *et al.*, 2013).



Según Lopera-Barrero et al. (2008), el uso de Cloruro de Sodio (NaCl) en la extracción de ADN es una metodología económica, fácil y rápida que permite extraer ADN en buena cantidad, lo cual fue ratificado en el presente trabajo, al obtener ADN de células epiteliales de boca (48,78  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) y nariz (58,63  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), al compararlo con muestras de sangre (74,83  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ), encontrándose dentro del rango reportado por López & Mejía (2012), González *et al.* (2011) y EM, (2013), donde reportaron concentraciones de ADN entre 40 - 82,5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  y fueron inferiores a los 120-419  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  en aletas de peces reportados por Lopera *et al.* (2008).

#### **3.4.1 Incidencia de la Temperatura ambiental sobre el estrés calórico en los bovinos.**

La región donde se desarrolló la evaluación es de trópico bajo, solo se reportaron temperatura inferiores a 25°C en el mes de Julio hasta las 8:00 am, por lo tanto los animales estuvieron por fuera de la zona de confort térmico, en los *B. taurus* (25°C) y en los *B. indicus* (27°C) (Alzina *et al.*, 2001). Por tanto estuvieron siempre con estrés calórico, causando que los receptores del cuerpo de los bovinos lo transmitan al cerebro colocando en acción los mecanismos compensatorios, su respuesta fue evaluada determinando frecuencia respiratoria y temperatura superficial (Correa *et al.*, 2009; Santos, 2014, Saravia & Cruz, 2003).

#### **3.4.2 Color de piel y del pelaje en la expresión de estrés calórico en los bovinos.**

Según Olarte *et al.*, (2019), es apropiado los colores claros en los pelajes debido a que la radiación de la luz solar es necesaria para los organismos vivos, pero el desgaste en la capa de ozono, está causando lesiones cutáneas, tumoraciones ópticas, estrés térmico o incluso la muerte debido a que los rayos UV causan en la piel estrés oxidativo, por una excesiva producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), que pueden dañar a la célula causando envejecimiento celular o cáncer en aquellos animales despigmentados.

El color del pelaje en los tipos raciales fue diferente, según la clasificación de Soberantes (2014), no se realizó una evaluación colorimétrica, pero se encontró que los pelajes de los criollos eran bayos claros, y los de los cruces donde predominaba el *B. indicus* eran

predominantemente claros (blancos, blancos con manchas negras, blancos jaspeados, bayos claros) y los *B. taurus* eran de pelajes oscuros predominantemente negros o negros con manchas blancas), aparentemente esta característica fue determinante para que los criollos Caqueteños y *B. indicus* fueran menos afectados por las altas temperaturas, mientras que los *B. taurus* presentaron mayor afectación.

Pérez et al. (2020) demostró que los pelajes claros ayudan a mantener la temperatura corporal, debido a mayor disipación de calor (Castro et al., 2021), otros mecanismos que se relacionan con la pérdida de calor es el color de la piel, las variables ambientales actúan sobre el animal por la interacción directa con la piel y el pelo o afectando los receptores nerviosos presentes en la piel, la respuesta del animal varía dependiendo entre otras cosas del color del pelaje (Manrique, 1995 y Pérez et al., 2020).

Al relacionar los pelajes de los animales con las variables fisiológicas presentaron menor frecuencia respiratoria y temperatura superficial, debido a dos aspectos, el primero es que los colores claros reflejan una mayor proporción de la radiación solar que el pelo de color oscuro y la segunda es que la eficacia en la evaporación que ayuda a disipar el calor es mayor en pelajes claros, debido a que se transfiere con mayor facilidad el calor y humedad desde la superficie de la piel al entorno circundante (Yoo, 2014 y Bertipaglia et al. 2007).

El color del pelaje varía el índice del calentamiento tegumentario en los bovinos, Curtis (1981), determinó que es 0,50 para los pelajes blanco; 0,8 para los colores marrón claro y 0,90 para los negros; indicando que la cantidad de energía calórica retenida y acumulada en la superficie corporal cambia en función de la tonalidad del pelaje. Por eso los pelajes de colores claros del criollo Caqueteño y del *B. indicus* aumentaron la reflexión de la radiación solar (Saravia & Cruz, 2003) y los pelajes oscuro de los *B. taurus* aumentaron el calentamiento epidérmico (West, 2003). La tonalidad del pelaje afectó la termorregulación en los animales porque entre más oscuro era el color de la superficie tegumentaria menor es el grado de emisividad calórica (Araúz, 2017).

### 3.4.3 Morfometría del pelo y su efecto en el estrés calórico.

La tarea fundamental de la capa de pelo de los animales es atrapar el aire para aislarlos del frío, pero se convierte en un obstáculo en condiciones de altas temperaturas y humedad al reducir la evaporación desde la piel, por que disminuye la velocidad y los gradientes de humedad a través de la capa de pelo (Gebremedhin, 2012).

La evaluación morfométrica del pelo permitió encontrar diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ), entre los tipos raciales para las variables longitud, densidad y peso del pelo obteniendo menores valores para el criollo Caqueteño, lo que le permite estar más adaptado para soportar las condiciones climáticas del trópico húmedo bajo.

Las investigaciones de Pan (1964), Bertipaglia et al. (2007), Da Silva *et al.* (2003), Gilbert & Bailey (1991), Bertipaglia et al., (2018), Peters & Slen (1964) y Yoo (2014) demuestran que los animales de razas puras *B. taurus*, presentan mayor longitud en el pelo que los *B. indicus*; en el presente trabajo estos dos grupos raciales no presentaron diferencias significativas debido a que son animales cruzados y otra razón puede ser la encontrada por Saravia & Cruz, (2003), quienes reportan que un mecanismo fisiológico para amortiguar los cambios de temperatura es que los animales mudan su pelaje por uno más corto.

La longitud del pelo de los bovinos es una variable importante para determinar el grado de adaptación que presentan al medio cálido, los pelajes cortos están relacionados con animales adaptados a las condiciones tropicales y ecuatoriales (Manrique, 1995), el pelo corto de los criollos Caqueteños es una ventaja teniendo en cuenta las condiciones climáticas de la región. Según Botero (2008), en los animales de pelo corto los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas y sebáceas son más grandes, excretando mayor cantidad de agua, facilitando la pérdida de calor por medio de los mecanismos de termorregulación por convección y evaporación.

Según Landaeta et al. (2011) en su estudio con bovinos criollos limonero en el estado de Zulia, Venezuela se considera slick hair a individuos que presentan una longitud de pelo inferior o igual a  $4,9 \pm 0,12$  mm donde el 93,4% de los individuos presentan esta alteración,

de igual manera se reporta que el 88% de los criollos Caqueteño estudiados presentan el gen de pelo corto (slick hair gene) con longitudes menores a 5,0 mm, mientras que el 12% restante presenta una longitud superior a los 5,0 mm, por otra parte el 20% de los cruces con tendencia mayoritaria de *B. taurus* reportaron la presencia de una mutación expresada en el Alelo A4 una longitud promedio de 5,4 mm.

Los pelos de la cruz son de mayor diámetro que los pelos del anca, pero entre las razas no presentaron diferencias significativas ( $P \geq 0,05$ ), lo cual es contrario a lo encontrado por Pan (1964), esta contradicción se presentó porque en la referencia citada trabajaron con animales puros, mientras el presente trabajo se realizó con vacas con cruces entre *B. taurus* y *B. indicus*.

La densidad de pelos por  $\text{cm}^2$  en el criollo Caqueteño ( $853,8 \pm 38^a$ ), presentando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) con los cruces donde predominaban los *B. indicus* ( $1271,1 \pm 58^b$ ) o *B. taurus* ( $1274,85 \pm 78^b$ ). La densidades se encuentran dentro del rango reportado por Bertipaglia *et al.* (2007), ( $993,18 \pm 503,76$  en la raza Bradford) y Veríssimo *et al.* (2002) ( $1140,62 \pm 289,14$  Gyr,  $971,62 - 1071$  cruces de Gyr con Holstein). El ganado Caqueteño presentó menos pelos a pesar de ser raza taurina, lo que demuestra que está más adaptado para las condiciones de la región de trópico bajo húmedo, lo cual fue demostrado por Maia & Loureiro (2005), cuando evaluó vacas en zonas tropicales y tenían menos pelos por  $\text{cm}^2$  que animales en zonas templadas.

Los cruces de los *B. taurus* y los *B. indicus* a pesar de que el color del pelaje era distinto (negros y blancos respectivamente) presentaron similar densidad de pelo, coincidiendo con lo reportado por Cena & Monteith (1975), el color del pelaje no es un factor que este correlacionado con la densidad de pelos en animales que tengan una tendencia racial similar y otro aspecto a tener en cuenta es que tradicionalmente en los sistemas de producción doble propósito de las zonas cálidas los animales que presentan peludos y con pelos largos son descartados a edad temprana como ya se había mencionado.

### 3.4.4 Incidencia de las características morfométricas sobre la frecuencia respiratoria, temperatura superficial que expresan estrés calórico.

La cámara termográfica fue una herramienta que permitió estimar la temperatura superficial (TS) del pelaje de forma no invasiva contribuyendo con el bienestar animal (Centurion *et al.*, 2016). La TS está directamente relacionada con la temperatura ambiente la cual varía según la hora del día, en las primeras horas de la mañana es baja y va aumentando a medida que avanza el día, llegando a su máxima temperatura entre 12:00 y 13:30. Esta misma tendencia se presenta con la temperatura ambiental. Al medio día aumentan la expresión de los síntomas del estrés calórico.

La hora de mayor temperatura ambiental fue entre la 1:00 p.m. y 1:30 p.m. ( $32,1 \pm 0,06^\circ\text{C}$ ), simultáneamente se presentaron las mayores temperaturas superficiales expresando diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los *B. taurus* ( $43,92 \pm 0,4^b$ ), *B. indicus* ( $40,02 \pm 0,3^a$ ) y los criollos Caqueteños ( $39,39 \pm 0,2^a$ ). La diferencia entre los cruces de mayor tendencia a *B. taurus* en comparación con los de mayor conformación de *B. indicus* es debido a que los últimos son más tolerantes al calor porque evolucionaron en el trópico cálido de la India (Hansen 2004), permitiendo la expresión de genes relacionados con la termotolerancia o que realizaron cambios anatómicos, fisiológicos para soportar las altas temperaturas y humedad. El criollo Caqueteño a pesar de tener orígenes taurinos de la península ibérica (Primo, 1992), presentó diferencias significativas con los cruces de mayor tendencia *B. taurus*, debido a que las razas criollas han desarrollado capacidades adaptativas a las condiciones tropicales, por el proceso de selección natural desarrollado durante quinientos años permitiéndole la adaptación al trópico cálido (Martínez, 2008; McManus *et al.* 2009 y Viera *et al.*, 2019)

Las temperaturas superficiales reportadas a las 12:30 p.m. para los animales *B. taurus* ( $38,5^\circ\text{C}$ ), *B. indicus* ( $38,4^\circ\text{C}$ ) y criollo Caqueteño ( $38,2^\circ\text{C}$ ), fueron superiores a las reportadas por Centurion *et al.*, (2016), (Nellore  $34,93^\circ\text{C}$  y raza local Pantaneira  $35,32^\circ\text{C}$ ); debido a que la investigación la realizaron en una región donde la máxima temperatura ambiental fue  $29^\circ\text{C}$ . Centurion *et al.* (2016), no encontró diferencia significativa en la TS entre el *B. indicus* y la raza local Pantaneira, lo cual se ratificó en este trabajo con el criollo Caqueteño, debido a que este tipo de animales están adaptados a las condiciones cálidas del trópico.

En las horas de mayor temperatura ambiental (12:00 m. a las 13:30 p.m.), los criollos Caqueteños por poseer menor longitud y densidad del pelo contribuyen en que los animales expresen menor FR y TS, presentando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) con los animales cruzados con mayor tendencia hacia *B. taurus* y no diferencias ( $p > 0,05$ ) con los *B. indicus*. Las otras posibles razones que ayudan a interpretar los resultados es que los Caqueteños y los *B. indicus*, presentan pelaje claro, corto y ralo, permitiendo mejor termorregulación y los animales que tenían mayor incidencia de razas *Bos taurus* presentan pelaje negro, pelo más largo, delgados y en mayor densidad por  $\text{cm}^2$ , causando que sean más afectados por el estrés calórico, debido a la menor capacidad de regular y de perder calor corporal (Hansen 2004, Tatis y Botero 2005, Villalobos 2012, Yoo 2014 y Maia *et al.* 2003).

Al analizar las variables relacionadas con la expresión del estrés calórico se encontró que la TS presenta correlación positiva con la longitud del pelo, alta para densidad del pelo y negativa con diámetro; la FR presenta correlación positiva con longitud, densidad del pelo y negativa con el diámetro. Por eso el criollo Caqueteño presento menor longitud, densidad y mayor diámetro del pelo, presentando menor TS y FR, seguido del *B. indicus* sin presentar diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Los Caqueteños y los *B. indicus*, presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con el *B. taurus* que fue el que presento mayor longitud, densidad y menor diámetro del pelo.

La evaluación de las gráficas de las variables morfométricas del pelo, las fisiológicas y los grupos raciales, evidenciaron un distanciamiento de los bovinos criollos Caqueteños con los *B. indicus* y *B. taurus*; los mayores valores de frecuencia respiratoria, temperatura superficial, densidad (pelos/ $\text{cm}^2$ ) y longitud (mm), están asociados a los animales *B. taurus* causándoles mayor retención de calor aumentando la TS y FR como mecanismo para disipar el calor y los mayores diámetros del pelo están asociados a los *B. indicus*, lo que indica que los menores valores de frecuencia respiratoria, temperatura superficial, densidad, longitud del pelo se relacionan con los criollos Caqueteños demostrando que son los más adaptados a las condiciones del trópico en las horas de mayor temperatura ambiental.

En los bovinos el flujo de calor es un proceso que depende principalmente de la humedad y la temperatura ambiente. En zonas cálidas y húmedas como las regiones de trópico bajo, los animales deben poder disipar el calor a través de la piel, del tracto respiratorio y evitar al mismo tiempo la energía térmica proveniente del ambiente (Yoo, 2014). Este mecanismo según los datos encontrados lo realiza mejor los criollos Caqueteños, seguido de los animales cruzados que tienen mayor incidencia de *B. indicus*.

El color del pelaje es uno de los mecanismos más eficaces para reflejar o retener el calor proveniente de la radiación solar; el color negro de los pelajes de los denominados *B. taurus*, fue un factor determinante para que se presentara mayor frecuencia respiratoria y temperatura superficial; confirmando lo encontrado por Bertipaglia *et al.* (2007).

El análisis de conglomerados realizados para determinar distancia euclídea de los animales de los grupos raciales evaluadas teniendo en cuenta las variables color del pelo medidas morfométricas del pelo y variables fisiológicas identificó claramente dos grandes cluster o grupos de tipos raciales los *B. taurus* y los *B. indicus*; el otro grupo son los criollos Caqueteño.

En la región tropical se presenta el sistema de producción doble propósito, el cual se caracteriza porque los hatos están conformados por animales cruzados, donde se realizan cruces entre animales de razas descendientes de los *Bos indicus* (gyr, guzerat, etc.) quienes aportan los genes de resistencia los cuales son cruzados con animales *Bos taurus* (Holstein, Pardo Suizo, etc.) para aportar genes de producción, enfocados principalmente a la producción de leche. Al no presentarse diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las variables morfométricas del pelo entre los *B. taurus* y *B. indicus* permite determinar que a pesar de que son diversos cruces se puede conocer como un solo grupo racial, lo cual ratifica lo planteado por Martínez *et al.* (2015), cuando se evalúa las diferencias genéticas entre poblaciones, las de mayor similitud son los cruces entre *B. taurus* y *B. indicus*, y lo que hizo que se presentara diferencias en las variables fisiológicas entre estos dos grupos fue la diferencia del color del pelaje.

### 3.4.5 Caracterización de la secuenciación de los genes de la prolactina PRL y el receptor de la prolactina PRLR y sus posibles efectos en el estrés calórico.

Con el fin de identificar posibles mutaciones en los genes de la prolactina (PRL) y el receptor de la prolactina (PRLR) se realizó la caracterización de las secuenciaciones, tanto de los genes como de las proteínas codificadas. En el caso del gen PRL, es un fragmento del cromosoma 23 que posee aproximadamente 8700 nucleótidos, contiene en su estructura cinco regiones codificables (exones). Basados en estudios de Littlejohn *et al.* (2014), se diseñaron primers en la región E5 del gen, el tamaño del amplicon que se secuenció fue de 392 nucleótidos, entendiendo la gran diversidad que presenta, además de mutaciones puntuales implicada en cambios fenotípicos del tamaño del pelo.

Se decidió secuenciar el gen PRL debido a que se evaluarían animales que tenían una gran incidencia de *Bos taurus*, los cuales en sus razas puras son propensos a presentar pelajes largos (Botero, 2008). Según reportes hechos por Littlejohn *et al.* (2014), el nucleótido (Chr23:35105313) del gen PRL que está en la genbank de la NCBI, es un sitio polimórfico (T > G) involucrado en el aumento del tamaño del pelo en los bovinos. Sin embargo, el presente trabajo indicó que este sitio polimórfico se encuentra ubicado en una posición diferente (Ch23:35332871). El cambio de esta base se ve reflejada en la mutación de un aminoácido de la proteína codificada (Cys > Gly) (figura 2-3B). Aunque la región amplificada abarca parte del dominio SHF de la proteína Prolactina, las secuencias de los individuos analizados mostraron regiones completamente conservadas, indicando de esta manera que los ejemplares no presentan la mutación de aumento de tamaño en el pelo corporal lo cual se evidenció en que los animales no presentaron pelos extremadamente largos, debido a que estos cambios puntuales en las secuencias de cada uno de los alelos, no modifica la lectura de aminoácidos de la proteína correspondiente, por considerarse mutaciones silenciosas.

La región que se determinó amplificar forma parte de la proteína que abarca aproximadamente 63 aminoácidos en posición C-terminal de la región conservada y el



dominio SHF juega un rol importante en la regulación de la unión a la prolactina receptora (Davis *et al.*, 2017).

Para el caso del gen receptor de la prolactina (PRLR), que es el gen encargado de codificar la proteína receptora que interactúa con PRL para desencadenar la cascada de señalización, su caracterización indica que es un fragmento de más de dieciocho mil nucleótidos, una diferencia notable respecto a su ligando. Se pueden identificar 11 regiones codificables (exones), Davis *et al.* (2017), reportaron mutación en el cromosoma 20 en el exón 11 en el nucleótido 391365558, en el presente trabajo se encontró en la posición Ch20:39099214, la mutación puntual fue de un nucleótido (C > /), causando delección de una citosina, provocando el cambio en la lectura de codones, induciendo a la codificación de un aminoácido diferente (Ala > Val), seguido de un codón de finalización (TAA), provocando la pérdida de información de la posición C-terminal de la proteína. Esta mutación no interviene en los procesos de unión con el ligando, sin embargo, aparentemente es la principal causa del fenotipo de pelo corto en este tipo de organismos. La proteína codificada cuenta con un tamaño de aproximadamente 581 aminoácidos y dominios en posición N-terminal, la región amplificada cuenta con un tamaño de 140 aminoácidos. En su estructura primaria presenta tres dominios intracelulares y un dominio extracelular que permite la unión con el ligando prolactina.

#### **3.4.6 Caracterización de sitios polimórficos del PRL y PRLR.**

La caracterización de las secuencias de PRL demostraron seis sitios polimórficos que corresponden a transiciones de nucleótidos (purina/purina o pirimidina/pirimidina) y transversiones de nucleótidos (purina/pirimidina o viceversa), que no representan cambios puntuales en las secuencias de cada uno de los alelos, genera gran diversidad pero no modifica la lectura de aminoácidos de la proteína correspondiente, por lo que puede considerarse como mutaciones silenciosas que no causan cambios visibles en el fenotipo de los animales. Gran variabilidad presenta varios sitios polimórficos, pero no se tiene evidencia clara en que afecta.

En el caso del gen receptor (PRLR), se identificaron dos sitios polimórficos en cuatro alelos, ubicados hacia la posición 5' de la región codificante; uno corresponde a transiciones de nucleótidos y el otro transversiones de nucleótidos. De acuerdo con estos sitios, el cambio de citosina a timina del alelo dos trae como consecuencia la lectura de un codón de finalización que empieza en el nucleótido 190. Por otra parte, los alelos tres y cuatro presentan una transversión en el nucleótido 150, lo que genera igualmente la lectura de un codón de finalización. Esto conlleva a la pérdida de información en posiciones C-terminal de la proteína, viéndose reflejado posiblemente en la disminución de la longitud del pelo o en otros procesos metabólicos.

### **3.4.7 Relaciones filogenéticas.**

Los análisis filogenéticos de inferencia bayesiana (IB) y de máxima verosimilitud (ML) fueron deducidos a partir de las secuencias de datos de las regiones amplificadas de los 11 y 4 alelos de PRL (392 nt) y PRLR (506 nt) respectivamente. Los resultados arrojaron topologías idénticas y bien soportadas para los 44 individuos (Bootstrap=100).

Para el gen PRL el linaje A está representado por un único alelo (A10); el linaje B, donde se agrupan el resto de los alelos se divide en dos clústers. El I como ramificación temprana del linaje B, agrupando los alelos A3, A4 y A5, los cuales pertenecen exclusivamente a individuos de la raza criolla Caqueteña. El clúster II, siendo el más diverso, abarca las vacas doble propósito donde aglutina los dos grupos de cruces, los que poseen mayor tendencia al *B. taurus* y también a los que poseen mayor tendencia hacia al *B. indicus* representadas en 7 alelos diferentes, donde se evidencian orígenes polifiléticos de *Bos taurus* y *Bos indicus*.

En el caso de las relaciones filogenéticas inferidas a partir de secuencias de PRLR, el linaje A, es el más cercano a la línea ancestral (basal) como lo muestra la topología, aquí se agrupan los individuos que tienen el alelo 1, demostrando que tienen un ancestro común (origen monofilético). El linaje B se divide en dos clústers estadísticamente soportados. estas mostraron que no poseen un solo antepasado común (orígenes polifiléticos) para las vacas criollas Caqueteñas, por eso se representan mayoritariamente en los alelos A2, A3 y

A4, el clado I se subdivide y agrupa los alelos A3 y A4, mientras que el clado I muestra que el Alelo A2 es filogenéticamente basal.

El pelo corto encontrado en el criollo Caqueteño coincide con lo reportado por Littlejohn *et al.* (2014) en el ganado Senepol, este ganado presentaba pelaje corto y resbaladizo debido al locus dominante “slick”, encontrado en un fragmento del cromosoma 20, donde se incluye el receptor de la prolactina (PRLR), identificaron una mutación homocigota, consistió en una deleción de una sola base en el exón 10 e introduce un codón de parada prematuro ( p. Leu462) y la pérdida de 120 aminoácidos de la forma larga del receptor, por lo tanto la mutación está muy ligada al pelo corto en los bovinos Senepol y criollos Caqueteños; por lo tanto el pelo corto encontrado en el Senepol y en el criollo Caqueteño no surgió por introgresión de los *B. indicus*.

Según Littlejohn *et al.* (2014), la mutación del PRLR p.Leu462\* puede conferir al ganado una termotolerancia adicional más allá de sus efectos en la longitud del pelo corto, adicionalmente la dominancia de la mutación PRLR también es curiosa, ya que el truncamiento de 120 aminoácidos C-terminales podría esperarse que resultara en una pérdida o alteración de alguna de las funciones de la prolactina; según lo encontrado por Landaeta-Hernández *et al.* (2011), en el Criollo Limonero les permitió concluir que adicional al pelo corto también encontraron menos folículos pilosos (menos pelos por unidad de área), mayor tamaño de las glándulas sudoríparas y un flujo sanguíneo elevado que irriga la piel y todos estos aspectos contribuyen en los procesos de termorregulación; Huson *et al.* (2014), encontró que animales de las razas Senepol razas criollas Carola y Romosinuano poseen pelo corto, según Olson *et al.* (2003), esto les permite mantener menor temperaturas corporales cuando están bajo estrés por calor, los animales que presentaron estas características en el presente trabajo pueden estar relacionados con la mutación que causa el pelo corto.

### 3.5 Conclusiones

La menor densidad (cantidad de pelos/cm<sup>2</sup>), la longitud (mm) y el color del pelaje claros son las variables que más influyen para que los criollos Caqueteños y los cruces con mayor tendencia de *B. indicus* presentaron menor estrés calórico expresado en bajos niveles de temperatura superficial (°C) y frecuencia respiratoria (RPM), mientras que los cruces con mayor tendencia de *B. taurus* presentaron pelaje de color negro, longitud y densidad mayor del pelo los cuales afectaron los mecanismos de termorregulación y retención del calor causando mayor estrés calórico expresado con mayores frecuencias respiratorias y temperatura superficial del pelo.

Se encontró que el 88% de los Criollos Caqueteños presentan el gen de pelo corto (gen slick hair) por eso expresa características como menor longitud, densidad del pelo que causa que sea menos afectado por las altas temperaturas y humedad relativa.

El gen PRL presenta mayor diversidad de alelos y no presentan diferencias fenotípicas en los bovinos evaluados, mientras que el PRLR en los bovinos criollos Caqueteños genera una mutación que causa una deleción de un nucleótido, cambiando la síntesis del aminoácido Alanina por el Valina, seguido de un codón de parada que causa que no se sintetice el resto de la proteína, lo cual aparentemente es la razón que causa que los criollos Caqueteños presenten el pelo corto.

Los criollos Caqueteños y los cruces donde predomina la incidencia de los *B. indicus* son animales bien adaptados a las condiciones de altas temperaturas y humedad del trópico húmedo bajo y los cruces donde predomina el *B. taurus* son menos adaptados.

## Bibliografía.

- Aidar, M., & Line, S. R. P. (2007). A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Brazilian Dental Journal*, 18(2), 148–152.
- Alfonso, J. E. G. (2011). CAMBIO CLIMÁTICO:¿ CÓMO AFECTA LA PRODUCCIÓN GANADERA? *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(8), 1–8.
- Alzina, A., Farfán-Escalante, J. C., Valencia-Heredia, E. R., & Yokoyama-Kano, J. (2001). Condición ambiental y su efecto en la temperatura rectal y frecuencia respiratoria en bovinos cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*) del estado de Yucatán, México. *Revista Biomédica*, 12(2), 112–121.
- Araúz, E. (2017). Influencia del color del pelaje sobre el comportamiento térmico corporal, cinética de la sobrecarga calórica y alteración cardiorespiratoria circadiana em vacas lecheras cruzadas (6/8 *Bos taurus* x 2/8 *Bos indicus*) bajo estrés calórico em el trópico húmedo. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(7), 1–45.
- Baena, J. A., Ramos, Á. J., Gómez, C. J., & Gómez, D. E. (2013). Comparación de métodos de extracción de ADN en tejidos parafinados y utilidad para amplificación por PCR. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 172–179.
- Balzarini, M., Bruno, C., Córdoba, M., & Teich, I. (2015). Herramientas en el análisis estadístico multivariado. *Córdoba, Argentina*.
- Balzarini, M. G., Di Rienzo, J., Tablada, M., Gonzalez, L. A., Bruno, C., Córdoba, M., Robledo, C. W., & Casanoves, F. (2016). *Estadística y biometría: ilustraciones del uso de InfoStat en problemas de agronomía* (Issue 570.15195 B198e 2016). : Brujas.
- Barbosa, B. R. P., Santos, S. A., Abreu, U. G. P. de, Egito, A. A., Comastri Filho, J. A., Juliano, R. S., Paiva, S. R., & McManus, C. (2014). Tolerância ao calor em bovinos das raças Nelore branco, Nelore vermelho e Pantaneira. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 15(4), 854–865.
- Bertipaglia, E C A, Silva, R. G., & Maia, A. S. C. (2005). Fertility and hair coat characteristics of Holstein cows in a tropical environment. *Animal Reproduction (AR)*, 2(3), 187–194.
- Bertipaglia, Elaine Cristina Abaker, da Silva, R. G., Cardoso, V., & Fries, L. A. (2007). Hair coat characteristics and sweating rate of Braford cows in Brazil. *Livestock Science*, 112(1–2), 99–108.

- Botero, C. (2008). *Caracterización de la longitud del pelo en diferentes genotipos bovinos en el estado Zulia, Venezuela*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012.
- Broquet, T., Ménard, N., & Petit, E. (2007). Noninvasive population genetics: a review of sample source, diet, fragment length and microsatellite motif effects on amplification success and genotyping error rates. *Conservation Genetics*, 8(1), 249–260.
- Castro, M. S. M., Vasconcelos, A. M. de, Santos, V. O. dos, Lopes, A. K. C., Farias, M. R. S. de, Lima, F. R. G., Rogério, M. C. P., Ferreira, J., & Silveira, R. M. F. (2021). Thermoregulatory capacity of Santa Inês hair ewes of different genotypes associated with coat colors raised in a hot environment. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 24(4), 400–410. <https://doi.org/10.1080/10888705.2020.1819808>
- Cena, K., & Monteith, J. L. (1975). Transfer processes in animal coats. I. Radiative transfer. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 188(1093), 377–393.
- Centurion, S. R., FRANÇA, A. F. de S., Bezerra, B. B., Felix, G. A., & Piovezan, U. (2016). Temperatura superficial de bovinos considerando áreas com e sem a presença de pelos. *Embrapa Pantanal-Artigo Em Anais de Congresso (ALICE)*.
- Clamp, M., Cuff, J., Searle, S. M., & Barton, G. J. (2004). The Jalview Java alignment editor. *Bioinformatics*, 20(3), 426–427. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg430>
- Corella, D., & Ordovas, J. M. (2017). Conceptos básicos en biología molecular relacionados con la genética y la epigenética. *Revista Española de Cardiología*, 70(9), 744–753.
- Correa, A., Santos, G. des, Avendaño, L., Rivera, F., Alvarez, D., Ardon, F., Diaz, R., & Collier, R. (2009). Enfriamiento artificial y tasa de concepción de vaquillas Holstein con estrés térmico. *Archivos de Zootecnia*, 58(222), 231–239.
- Craven, A. J., Ormandy, C. J., Robertson, F. G., Wilkins, R. J., Kelly, P. A., Nixon, A. J., & Pearson, A. J. (2001). Prolactin signaling influences the timing mechanism of the hair follicle: analysis of hair growth cycles in prolactin receptor knockout mice. *Endocrinology*, 142(6), 2533–2539.
- Curtis, E. (1981). Psychometric approach to determine heat stress in animal production. *Environmental Management in Agriculture*.
- Da Silva, R. G., La Scala Jr, N., & Tonhati, H. (2003). Radiative properties of the skin and haircoat of cattle and other animals. *Transactions of the ASAE*, 46(3), 913.

- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and high- performance computing. *Nature Methods*, 9(8), 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Davis, S. R., Spelman, R. J., & Littlejohn, M. D. (2017). Breeding and genetics symposium: Breeding heat tolerant dairy cattle: The case for introgression of the “slick” prolactin receptor variant into bos Tdairy breeds. *Journal of Animal Science*, 95(4), 1788–1800. <https://doi.org/10.2527/jas2016.0956>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2018). *InfoStat versión 2018*. Universidad Nacional de Córdoba.
- EM, S. (2013). Saliva Humana para Diagnóstico e Investigación de Enfermedades. In *Investigación Experimental. Ciudad de México, México. Universidad Autónoma de México*.
- Eslava, J. A. (1993). Climatología y diversidad climática de Colombia. *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 18(71), 507–538.
- Espinoza, G. A. (2002). *Gestión y fundamentos de evaluación de impacto ambiental*. BID/CED.
- Esquivel, C. M. (2012). La raza, el pelo y la piel en función del bienestar animal. *Mundo Pecuario*, 8(1), 73–85.
- Estrada, C. A., & Rosas, G. (2007). Proyecto: Centro de Investigaciones Amazónicas Macagual (CIMAZ). *Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados. Universidad de La Amazonia*. 35p.
- Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, 125(1), 1–15.
- Finn, R. D., Coghill, P., Eberhardt, R. Y., Eddy, S. R., Mistry, J., Mitchell, A. L., Potter, S. C., Punta, M., Qureshi, M., Sangrador-Vegas, A., Salazar, G. A., Tate, J., & Bateman, A. (2016). The Pfam protein families database: towards a more sustainable future. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D279–D285. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1344>
- Gebremedhin, K. G. (2012). Heat stress and evaporative cooling. *Environmental Physiology of Livestock*, 35–48.
- Gilbert, R. P., & Bailey, D. R. C. (1991). Hair coat characteristics and postweaning growth

- of Hereford and Angus cattle. *Journal of Animal Science*, 69(2), 498–506.
- González, N., Rodríguez, N., Torres, W., & O'Callaghan, J. (2011). Protocolo sencillo para la extracción de ADN genómico de tejido de oreja del ratón y la rata, usando la enzima bromelina. *Revista Científica*, 21(3), 233–238.
- Hansen, P. J. (2004). Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science*, 82, 349–360.
- Hoffman, J. I., & Amos, W. (2005). Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Molecular Ecology*, 14(2), 599–612.
- Huson, H. J., Kim, E.-S., Godfrey, R. W., Olson, T. A., McClure, M. C., Chase, C. C., Rizzi, R., O'Brien, A. M. P., Van Tassell, C. P., & Garcia, J. F. (2014). Genome-wide association study and ancestral origins of the slick-hair coat in tropically adapted cattle. *Frontiers in Genetics*, 5, 101.
- Hyde, A. M., Zultanski, S. L., Waldman, J. H., Zhong, Y.-L., Shevlin, M., & Peng, F. (2017). General principles and strategies for salting-out informed by the Hofmeister series. *Organic Process Research & Development*, 21(9), 1355–1370.
- Jin, Y. F., Yin, Z. Y., Zhou, W. H., & Horpibulsuk, S. (2019). Identifying parameters of advanced soil models using an enhanced transitional Markov chain Monte Carlo method. *Acta Geotechnica*, 14(6), 1925–1947. <https://doi.org/10.1007/s11440-019-00847-1>
- Laitinen, J., Samarut, J., & Hölttä, E. (1994). A nontoxic and versatile protein salting-out method for isolation of DNA. *BioTechniques*, 17(2), 316, 318, 320–322. <https://europepmc.org/article/med/7980935>
- Landaeta-Hernández, A., Zambrano-Nava, S., Hernández-Fonseca, J. P., Godoy, R., Calles, M., Iragorri, J. L., Añez, L., Polanco, M., Montero-Urdaneta, M., & Olson, T. (2011). Variability of hair coat and skin traits as related to adaptation in Criollo Limonero cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 43(3), 657–663.
- Littlejohn, M. D., Henty, K. M., Tiplady, K., Johnson, T., Harland, C., Lopdell, T., Sherlock, R. G., Li, W., Lukefahr, S. D., Shanks, B. C., Garrick, D. J., Snell, R. G., Spelman, R. J., & Davis, S. R. (2014). Functionally reciprocal mutations of the prolactin signalling pathway define hairy and slick cattle. *Nature Communications*, 5, 5861.



- Lopera-Barrero, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P. C., Jacometo, C. B., & Silva Lopes, T. da. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1), 77–86.
- López, L., & Mejía, C. (2012). Evaluación de métodos de extracción de ADN para detección de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos. *Revista MVZ Córdoba*, 17(3), 3169–3175.
- Maia, A. S. C., da Silva, R. G., & Bertipaglia, E. C. A. (2003). Haircoat traits in Holstein cows in tropical environments: a genetic and adaptative study. *Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science*, 32(4), 843–853.
- Maia, A. S. C., & Loureiro, C. M. B. (2005). Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. *International Journal of Biometeorology*, 50(1), 17–22.
- Manrique, L. P. (1995). Relaciones entre el tamaño del pelo, el color de la piel y mucosas externas con la producción lechera en condiciones tropicales. *Acta Agronómica*, 45(1), 99–104.
- Martínez, M., Vargas, B., Cordero, J. M., Chacón, I., & León, B. (2015). Diversidad genética entre subpoblaciones raciales bovinas de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 39(2), 33–46.
- Martínez, R. D. (2008). *Caracterización genética y morfológica del bovino criollo argentino de origen patagónico*. Universitat Politècnica de València.
- McManus, C., Prescott, E., Paludo, G. R., Bianchini, E., Louvandini, H., & Mariante, A. S. (2009). Heat tolerance in naturalized Brazilian cattle breeds. *Livestock Science*, 120(3), 256–264.
- Meyer, X., Dib, L., Silvestro, D., & Salamin, N. (2019). Simultaneous Bayesian inference of phylogeny and molecular coevolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(11), 5027–5036. <https://doi.org/10.1073/pnas.1813836116>
- Morris, C. A., Amyes, N. C., & Hickey, S. M. (2011). Responses of prolactin and hair growth to selection for age at puberty in Angus cattle. *Animal*, 5(2), 198–201. <https://doi.org/10.1017/S1751731110001825>

- Miller, S., Dykes, D., & Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, *16*, 1215.
- Nardelli, M., Túne, J. I., CENTRÓN, D., & Cassini, M. H. (2011). Técnicas de muestreo no invasivas aplicadas al estudio genético de mamíferos. *Interciencia*, *36*(6).
- Neary, M. T., Neary, J. M., Lund, G. K., Garry, F. B., Holt, T. N., Mohun, T. J., & Breckenridge, R. A. (2014). A comparison of DNA collection methods in cattle and yaks. *Journal of Animal Science*, *92*(9), 3811–3815.
- Oftedal, O. T., & Dhouailly, D. (2013). Evo-devo of the mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, *18*(2), 105–120.
- Olarte Saucedo, M., Sánchez Rodríguez, S. H., Aréchiga Flores, C. F., Bañuelos Valenzuela, R., & López Luna, M. A. (2019). Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en animales domésticos. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *10*(2), 416–432.
- Olson, T. A., Lucena, C., Chase Jr, C. C., & Hammond, A. C. (2003). Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in *Bos taurus* cattle. *Journal of Animal Science*, *81*(1), 80–90.
- Pan, Y. S. (1964). Variation in hair characters over the body in Sahiwal Zebu and Jersey cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, *15*(2), 346–356.
- Pérez, R. V., Macías Cruz, U., Avendaño Reyes, L., Correa-Calderón, A., López Baca, M. de los Á., & Lara Rivera, A. L. (2020). Impacto del estrés por calor en la producción de ovinos de pelo. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *11*(1), 205–222.
- Peters, H. F., & Slen, S. B. (1964). Hair coat characteristics of bison, domesticx bison hybrids, cattalo, and certain domestic breeds of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, *44*(1), 48–57.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., & Sarkar, D. (2016). R Core Team (2016) nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-125. *Computer Software*. Retrieved from [Https://CRAN.R-Project. Org/Package= Nlme](https://CRAN.R-project.org/Package=Nlme).
- Primo, A. T. (1992). El ganado bovino ibérico en las Américas: 500 años después. *Archivos de Zootecnia*, *41*(154), 13.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior

- summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5), 901.
- Ronquist, F, van der Mark, P., & Huelsenbeck, J. P. (2009). Bayesian phylogenetic analysis using MRBAYES. In *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom*. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71002-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71002-3)
- Ronquist, Fredrik, Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542.
- Ruales E, F. R., & Manrique P, C. (2007). Uso del análisis de componentes principales para construir un índice tipo producción en ganado Romosinuano (*Bos taurus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(2), 124–128.
- Saravia, C., & Cruz, G. (2003). Influencia del ambiente atmosférico en la adaptación y producción animal. *Montevideo, Universidad de La Republica*.
- Soberantes, J. C. H. (2014). Color de pelajes en ganado Bovino Criollo. *Horizonte de La Ciencia*, 4, 18–19.
- Staden, R., Beal, K. F., & Bonfield, J. K. (2000). The Staden package, 1998. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 132, 115–130.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Tatis Zambrano, Roberto E; Botero Arango, L. M. (2005). *Génesis y consolidación del sistema vacuno en doble propósito*.
- Team, R. C. (2017). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. *R Foundation for Statistical Computing* . <http://www.R-project.org/>.
- Vargas, R., Rangel, L. F., Cañola, E. A., Jimenez, R., Lucero, E., Klinger, J. C., & Bastidas Gustin, A. E. (2006). DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE NIVELES DE ADN CIRCULANTE EN SUERO HUMANO UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE. *Revista Colombiana de Física*, 38(2).

- Veríssimo, C. J., Nicolau, C. V. J., Cardoso, V. L., & Pinheiro, M. G. (2002). Haircoat characteristics and tick infestation on gyr (zebu) and crossbred (holdstein x gyr) cattle. *Archivos de Zootecnia*, 51(195), 389–392.
- Viera, G. E. G., Maza, A. J. V., Méndez, M. S., Parra, M. E. S., Ordoñez, T. E. P., Guzmán, O. S. A., Ordoñez, J. G. B., Pacheco, J. L. P., & Mosquera, J. M. V. (2019). Características génicas de las poblaciones de bovinos criollos americanos en base a microsatélites. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*, 3(2), 188–196.
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2131–2144.
- Yoo, M. (2014). *Hair-coat Characteristics of Cattle*. Cornell University.

## **4 . Comportamiento etológico de bovinos de raza criollo Caqueteño y cruces raciales *Bos taurus* y *Bos indicus* en condiciones de trópico bajo húmedo.**

### **Resumen.**

La investigación se realizó en una región de bosque húmedo del trópico bajo, en el piedemonte amazónico, en el Centro de Investigaciones Amazónicas “MACAGUAL” de la Universidad de la Amazonía, departamento de Caquetá, Colombia. El objetivo de esta investigación fue determinar los cambios fisiológicos y etológicos relacionados con el estrés calórico en bovinos de las razas criollo Caqueteño y de cruces procedentes de *B. taurus* y *B. indicus* en diferentes horas del día, en una zona ubicada en el trópico amazónico. Se evaluaron un total de 44 animales que se tres grupos raciales; un primer grupo compuesto de 24 individuos criollo Caqueteño, un segundo grupo conformado de 10 hembras que presentaban en su composición genética un porcentaje superior al 50% de *Bos taurus* y un último grupo que incluyó 10 hembras que presentaban más del 50% de su composición genética de *Bos indicus*. El ganado evaluado fue ubicado en franjas para pastoreo en praderas con bajo nivel de sombra donde predominaban pasto *Braquiaria humidicola*.

La determinación de los parámetros se realizó mediante observación directa durante un periodo de 6 meses que comprendió desde el mes de abril hasta septiembre. La recolección de datos se llevó a cabo desde las 7 a.m. hasta las 5 p.m, correspondieron a las variables de comportamiento como pastoreo, rumia, descanso, consumo de agua con o sin sombra y a las variables fisiológicas de frecuencia respiratoria y temperatura superficial. Se registraron las variables climáticas temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR), temperatura de bulbo húmedo (TBH), temperatura en globo negro (TGN), temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA), presión atmosférica (PA), punto de rocío (PR) y velocidad del viento (VV). Se determinaron los índices relacionados con el estrés calórico índice de calor (IC), índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), índice límite de trabajo térmico (ILTT), índice de temperatura humedad (ITH), índice de carga de

calor húmeda y viento (ICC), índice de humedad en globo negro (IHGN), índice de temperatura humedad y viento (ITHV), índice de enfriamiento por viento (IEV).

Los índices que más se relacionaron con la expresión de estrés calórico fueron ITH, ITGNH e ICC. Se registró temperaturas iguales o superiores de 25,2°C desde el registro a las 7:00 a.m. lo que indica alerta de estrés calórico desde las primeras horas del día. Para el mes de julio se presentaron los valores más bajos de los parámetros registrados, mientras que en septiembre se observaron los valores más altos. Los bovinos criollos Caqueteño, interrumpen menos su rutina de pastoreo seguido de los *B. indicus*. Los animales que genéticamente presentan mayor incidencia de los *B. taurus* son los más afectados por las altas temperaturas, lo que se expresó disminuyendo el tiempo de pastoreo, las actividades en el sol (pastoreo, rumia y descanso), lo cual aumenta su estadía en la sombra para descanso o rumia y dedicando más tiempo al consumo de agua en los momentos de mayor temperatura.

La mayor temperatura superficial (TS) se presentó a la 1:00 pm, donde el grupo de animales con mayor expresión fueron los animales con mayor incidencia *B. taurus* (38,7°C), presentando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) con los *B. indicus* (38,4°C) y los Criollos Caqueteño registró la menor temperatura superficial (38,1°C). La frecuencia respiratoria (FR) fue mayor a la 1:30 pm, siendo mayor en los cruces de mayor incidencia de *B. taurus* (45,0 rpm), seguido de los *B. indicus* (40,7 rpm) y los de menor los criollos Caqueteños (39,5 rpm). El análisis de los datos obtenidos permitió establecer que el grupo de los individuos criollos Caqueteños muestra la menor variación en su comportamiento respecto al pastoreo, mientras los cruces de *B. taurus* son los más afectados, disminuyendo el pastoreo e incrementando las frecuencias respiratorias y temperaturas superficiales del pelaje. Las variables ambientales que tienen alta relación positiva con la temperatura superficial de los animales como expresión del estrés calórico son principalmente TGN seguido de TA y los índices IC, ITGNH e ICC

**Palabras clave:** criollo Caqueteño, cruces *Bos taurus* y *Bos indicus*, etología en bovinos, frecuencia respiratoria, temperatura superficial, índices de estrés calórico.

## 4.1 Introducción

El abuso del hombre al utilizar los recursos naturales, ha generado un proceso de degradación del medio que repercute directamente en el cambio climático (Núñez et al., 2016). Los sistemas naturales están siendo afectados por el incremento de la temperatura de los océanos y del aire, aumento del nivel de los mares debido a la pérdida de hielo en los glaciares y por el incremento en un 70% en las emisiones de gases con efecto invernadero (GEI) debido a las actividades antropogénicas (Intergubernamental & Clim, 2007).

Las temperaturas ambientes superiores a 25°C con humedad relativa mayor al 80% afectan el bienestar animal y su estado de confort (Arias et al., 2008), influyendo sobre sus mecanismos físicos y psíquicos (Uribe, 2016). El nivel de afectación del estrés calórico varía según la adaptación del tipo racial y puede manifestarse como cambio en los requerimientos de nutrientes aumentando el consumo de agua, disminuyendo los requerimientos de energía generando menos consumo de materia; activación de los procesos fisiológicos para eliminar calor por medio de evaporación cutánea (lo que se manifiesta desde los 15°C), jadeo (a partir de los 21°C), vasodilatación periférica, sudoración, alteración del metabolismo hídrico y mineral. (Armendano, 2018; Fonade & Ideam, 2013; Suárez et al., 2012; Gallardo et al., 2008 y Pardo, 2012).

Los cambios causados en los animales por el aumento de las variables ambientales disminuyen los parámetros productivos (Carvajal et al., 2012; Suárez Salazar et al., 2015; Rojas et al., 2005 y Romero et al., 2009), por el bajo consumo de alimentos e incremento de la ingestión de agua y el tiempo destinado al descanso y rumia (Pérez et al., 2008). Las temperaturas elevadas generan desequilibrio endocrino aumentando el nivel de cortisol, la frecuencia respiratoria, la temperatura corporal y el ritmo cardíaco (Faure et al., 2004 y Celmira et al., 2011). Los efectos de las altas temperaturas del clima del trópico bajo, afectan especialmente a los individuos *B. taurus*, lo que se evidencia porque pasan buena parte de su tiempo resguardándose de los rayos solares, con disminución de sus

parámetros productivos y riesgo de incrementar la morbilidad y mortalidad (Espinoza et al., 2009; Ulrich et al., 1994).

Con base en las investigaciones acerca del cambio climático se proyecta un aumento de la temperatura hasta de 5,8°C para el año 2100 (Murgueitio, 2000), condición que ocasionaría que los problemas de salud y producción en los bovinos se agudicen (CEPAL et al., 2017). Es esta la razón de la importancia de seleccionar material genético que se adapte al medio donde se establecen los sistemas de producción (Magaña et al., 2019). Los animales cruzados o los recursos genéticos locales poseen potencial para soportar las condiciones climáticas cambiantes (Vilches & Pérez, 2011).

Es importante evaluar el cambio climático y su incidencia en el comportamiento animal que afecte negativamente la productividad, lo cual es de gran impacto en regiones como el Caquetá y países como Colombia que derivan su economía de las producciones bovinas (Gumucio et al., 2016). Los animales que predominan en las regiones del trópico bajo son los cruces entre *B. indicus* con *B. taurus*, que buscan aprovechar la heterosis para mejor productividad doble propósito (carne y leche) y resistencia a las condiciones climáticas del trópico (Baena & Halfter, 2008 y Santellano-Estrada et al., 2011). Los bovinos con ascendencia de *B. taurus* pueden aportar parámetros productivos a estos cruces, pero presentan mayor afectación en su comportamiento en condiciones del trópico bajo debido a que están adaptados a regiones templadas de Europa (Báez et al., 2010; Espinoza et al., 2011 y Araúz, 2017). Por su parte los *B. indicus* por proceder del trópico asiático y africano presenta mayor rusticidad (Aroeira et al., 2016). Esta hibridación busca ofertar animales con parámetros productivos interesantes adaptados al trópico (Cortés et al., 2003).

Los aportes positivos fisiológicos de adaptación al trópico cálido no solamente se atribuyen al cruce de estos dos grupos raciales, puesto que en el continente Americano se han reportado razas criollas descendientes del *B. taurus*, traídas por los españoles desde el segundo viaje de Cristóbal Colón en 1493 (Rouse, 1977), que han logrado adaptarse a las regiones tropicales cálidas, transmitiendo sus genes a la descendencia (Cavallotti, 2014). Estas razas son recursos genéticos locales o criollos, tolerantes a altas temperaturas, humedad relativa, resistentes a parásitos, con mayor longevidad y exhiben la capacidad de aprovechar forrajes bajo nivel nutritivos (Arias et al., 2008), manifestando una mayor



adaptación al medio (da Silva, 2014; Segura & Montes, 2001 y Arroniz et al., 2012). A pesar de estas ventajas el inventario bovino colombiano cuenta con una baja población de animales criollos (Celis et al., 2020). El criollo Caquetense es un recurso zoogenético local que a pesar de su adaptación a las condiciones ambientales de la Amazonía colombiana (Barrera et al., 2006) se encuentra en vía de extinción debido a la erosión genética causada con los cruces absorbentes con Brahman (Quijano et al., 2015). Es necesario evaluar los recursos genéticos locales, porque el cambio climático es una realidad progresiva que impacta las producciones (Llamas, 2009) y se necesita incrementar la producción de alimentos de origen animal para la seguridad alimentaria de la creciente población de humanos (FAO, 2009).

En las regiones de trópico bajo el pastoreo en la mayoría de los sistemas de producción es la única fuente de alimentación y el consumo en las praderas como su comportamiento en general es expresado por las interacciones entre las variables ambientales, la calidad nutricional del forraje, el estado fisiológico, el genotipo, la conducta natural del animal, adaptación, filogenia o evolución, por tal razón las evaluaciones etológicas se realizan en las condiciones tradicionales de manejo (Varón, 2011; Vergara et al., 2009; Molina-Coto, 2017; Petryna & Bavera, 2002; Pinzón & Mejía, 2017; Pérez et al., 2008; Gibson & Hanotte, 2008; Mejía et al., 2010; Aguilar et al., 2004; Russi et al., 2011 y Paranhos da Costa et al., 2002), aspectos que deben identificarse en el etograma (Eibl-Eibesfeldt, 1979) o lista del repertorio comportamental del animal en condiciones climáticas naturales (Grier & Burk, 1992).

Las variables climáticas y los índices para determinar los niveles de estrés calórico generado por el ambiente varían según el mes y serán elementos determinantes para explicar el cambio en el comportamiento etológico, en la frecuencia respiratoria y temperatura superficial de los bovinos según su tipo racial (Aggarwal & Upadhyay, 2013). Los cambios en las condiciones climáticas afectan los índices relacionados con el estrés calórico en bovinos, por lo tanto, existen algunos índices que se ajustan mejor a las condiciones del trópico húmedo bajo (Hahn et al., 2003; Rashamol et al., 2018).

La presente investigación tiene como objeto evaluar el comportamiento etológico en bovinos durante las horas del día teniendo en cuenta el cambio de las variables ambientales e índices de estrés calórico en animales de la raza criollo Caqueteño y cruces tendientes a *B. taurus* y a *B. indicus*.

## **4.2 Materiales y métodos.**

### **4.2.1 Ubicación Geográfica.**

El estudio fue llevado a cabo en el Centro de Investigaciones de la Universidad de la Amazonia, ubicada en las coordenadas 1°37' N y 75°36'W, con un clima tropical lluvioso de selva (Af), según clasificación de Koeppen (Eslava, 1993), temperatura promedio 25.5° C, 3793 mm de pluviosidad anual, 1707 horas de brillo solar por año, humedad relativa 84.27%, altitud de 250 metros sobre el nivel del mar (Estrada & Rosas, 2007).

### **4.2.2 Área de estudio.**

El área destinada para la evaluación fue una zona de vega, conformada por 8 franjas divididas con cerca eléctrica de 1.2 hectáreas cada una, con acceso a bebederos naturales de fuente hídrica corriente, la gramínea predominante era la *Brachiaria humidicola* y presencia de árboles dispersos en potreros que proporcionaban sombra. El periodo de ocupación fue de 4 días, garantizando cantidad y calidad de alimento para su mantenimiento (Nasca et al., 2006); a los animales se les garantizó las mismas condiciones ambientales y de manejo.

### **4.2.3 Animales.**

Se utilizaron 44 vacas, con edad promedio de 46 ± 14 meses, sin estado de embarazo y con estado de salud adecuada de acuerdo a la evaluación veterinaria.

Los animales se distribuyeron en tres grupos conformado como sigue:

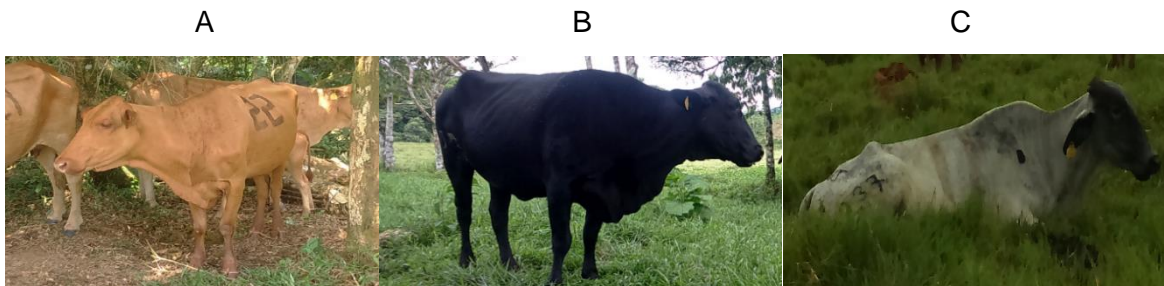
Grupo 1: 24 animales pertenecientes a la raza criollo Caqueteño.

Grupo 2: 10 animales con características que presentaban una constitución genética individual proveniente de cruce con incidencia de las razas Holstein, Gyr y Brahman donde tenían mayor incidencia de *B. taurus* (superior al 50%).

Grupo 3: 10 animales con características que presentaban una constitución genética individual proveniente de cruce con incidencia de las razas Gyr, Brahman y Holstein, donde tenían mayor incidencia los *B. indicus* (superior al 50%).

La identidad racial y la edad de cada animal fueron validadas utilizando el software ganadero SG versión 14.

**Figura 4-1:** Animales de la raza criollo Caqueteño (A) y vacas doble propósito de mayor tendencia a *B. taurus* (B) y de mayor tendencia hacia *B. indicus* (C)



#### 4.2.4 Determinación de variables ambientales.

Para determinar los valores climatológicos temperatura ambiente, la humedad relativa, velocidad del viento, presión atmosférica, punto de rocío, temperatura en bulbo negro, temperatura en bulbo negro húmedo, temperatura en bulbo negro húmedo de aspiración natural, se utilizó estación climática portátil, marca Kestrel (serial 4400).

#### 4.2.5 Determinación de índices relacionados con el estrés calórico.

Con los datos de las variables ambientales se determinaron índices relacionados con el estrés calórico, índice de calor (IC) (Steadman, 1979); índice de temperatura del globo negro húmedo (ITGNH) (Moran et al., 2001); índice de temperatura y humedad (ITH) (Cony et al., 2004); índice de carga de calor (ICC) (Suárez et al., 2012); índice de temperatura humedad y viento (ITHV); índice límite de trabajo térmico (ILTT) (Brake & Bates, 2002) e índice de enfriamiento por el viento (IEV) (Al-Taai & Saleh, 2017).

La determinación de distintos índices relacionados con el estrés calórico proporciona información que permite estimar cuál es el que mejor interpreta el estrés calórico bajo condiciones de trópico bajo húmedo.

#### 4.2.6 Variables fisiológicas.

La frecuencia respiratoria se evaluó mediante la observación directa de cada uno de los bovinos con la ayuda de binoculares (marca Tasco zip, serial 2023BRZ), basándose en la estimación de los movimientos intercostales de inhalación y exhalación respiraciones por minuto (rpm).

La determinación de la temperatura superficial de los animales, se realizó mediante una cámara termográfica, de marca Flus, serial IR-890, apuntando a la región intercostal a una distancia de tres metros.

Los datos de FR y TS se realizaron por animal a las 7:00 am, 8:00 am y seguidamente cada 30 minutos hasta las 5:00 pm,

#### **4.2.7 Consideraciones éticas y de bienestar animal**

El estudio fue realizado considerando las normas para manejo experimental de animales y no implica procedimientos en contra del Bienestar animal, por lo cual fue avalado por el comité de Ética en investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia - sede Palmira, en acta del 8 de febrero de 2018.

### **4.3 Metodología**

La toma de datos de las variables ambientales, temperatura superficial (TS) y frecuencia respiratoria (FR) se realizó desde las 7:00 a.m. hasta las 8:00 a.m. y después cada treinta minutos hasta las 5:00 p.m. de lunes a jueves durante 6 meses (Abril – Septiembre). Los animales fueron marcados con tinte para cabello de origen natural en su zona intercostal, con un número de 30 cm para facilitar su identificación a distancia.

El etograma se construyó teniendo en cuenta las actividades a evaluar: pastoreo, rumia, descanso, con y sin sombra e ingesta de agua; para facilitar la toma de datos en campo, se empleó una tabla de registro, asignándole código a cada actividad (Pérez et al., 2008).

- Pastoreo con sol (Psol): Cuando el animal pastorea, expuesto a los rayos solares bien sea en un solo punto o desplazándose.
- Pastoreo con sombra (Psom): Cuando el animal pastorea en la sombra, bien sea en un mismo punto o desplazándose.
- Descanso con sol (Dsol): El animal está bajo los rayos solares, sin consumir alimento ni rumiar, en estado de quietud, echado o de pie.
- Descanso con sombra (Dsom): El animal no pastorea ni rumia, se queda quieto sea parado o echado, bajo la sombra.
- Rumia con sol (Rsol): El animal rumia bajo el sol, en cualquier posición.

- Rumia con sombra (Rsom): El animal está rumiando bajo la sombra, no importa su posición.
- Bebiendo (B): Se determina cuando el animal este consumiendo agua. (Pérez et al., 2008).

La observación del comportamiento de los bovinos se realizó mediante la técnica de registro ad libitum de ejecución y muestreo 'scan' instantáneo (Altmann, 1974). Los datos se describieron en porcentaje de animales por cada raza que realizan las diferentes actividades en cada hora evaluada.

#### **4.3.1 Análisis de datos**

Para analizar los datos se utilizó una evaluación estadística descriptiva y curva de tendencias de las variables ambientales e índices relacionados con el estrés calórico, analizándolos por meses y durante todo el periodo de evaluación teniendo en cuenta el efecto de la hora. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) con un diseño experimental completamente al azar teniendo en cuenta el tipo racial, se utilizó la comparación de medias con la prueba LSD Fisher para determinar diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre las razas con las variables fisiológicas (frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial (TS)) y variables etológicas (Pastoreo con sol (Psol), pastoreo con sombra (Psom), descanso con sol (Dsol), descanso con sombra (Dsom), rumia con sol (Rsol), rumia con sombra (Rsom) y bebiendo (B))

Se estimaron las correlaciones entre las variables ambientales (temperatura ambiente (TA), humedad relativa (HR), temperatura en globo negro (TGN); temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA); presión atmosférica (PA), punto de rocío (PR) y velocidad del viento (VV)), índices de estrés calórico (Índice de calor (IC), Índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), Limite de trabajo térmico (LTT), Índice de temperatura humedad (ITH), Índice de carga de calor húmeda y viento (ICCHV), Índice de humedad en globo negro (IHGN), Índice de temperatura humedad y viento (ITHV), Índice de enfriamiento por viento (IEV)); variables fisiológicas (frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial (TS)) y variables etológicas (Pastoreo con sol (Psol), pastoreo con sombra (Psom), descanso con sol (Dsol), descanso con sombra (Dsom), rumia con sol (Rsol), rumia con sombra (Rsom) y bebiendo (B)).

Para relacionar a todas las variables con cada uno de los 44 individuos de los tres grupos raciales se realizó un análisis de componentes principales. La relación entre variables fue estudiada usando matrices de diagramas de dispersión y mediante correlaciones lineales de Pearson ( $P < 0.05$ ). Para ver la relación entre variables de respuesta, variables ambientales y los 44 individuos se realizará un gráfico biplot.

Para el análisis de los datos se usó el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2018), mediante una interfase amigable de la plataforma R versión 3.2.0 (Valbuena et al., 2017), basado en el paquete nlme (Ortiz et al., 2015).

## 4.4 Resultados.

### 4.4.1 Evaluación de las variables ambientales.

Con relación a las fluctuaciones de las variables ambientales presentadas en la tabla 4-1, se observó: Una temperatura ambiental (TA) que fluctuó entre 25,83°C y 30,4°C en horas de la mañana, con tendencia a incrementarse hasta alcanzar una temperatura máxima de 32,1°C cerca de las 2 p.m. La temperatura en bulbo húmedo (TBH) fluctuó entre 24,3°C y 26,7°C en horas de la mañana, con tendencia a incrementarse hasta las 2:00 p.m. con temperatura máxima de 26,8°C. La temperatura en globo negro (TGN), fluctuó entre 26,9°C y 35,9°C en la mañana; hasta alcanzar una máxima de 37,6 °C a las 2:00 p.m. La temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA), En horas de la mañana presenta valores entre 24,0°C y 27,1°C; hasta llegar a su máximo valor a las 3:00 con 27,5. La humedad relativa (HR) se presentó entre 86,8±0,8 y 68,0±1,4%, el mayor registro fue a las 7:00 a.m. y fue disminuyendo en el transcurso del día hasta las 4:00 p.m. La VV en fue baja, la máxima fue de 0,6 m/segundo en las horas del mediodía (figura 4-2H). La PR, PA y VV presenta poca fluctuación durante todo el periodo evaluado (figuras 4-2 E, G y H).

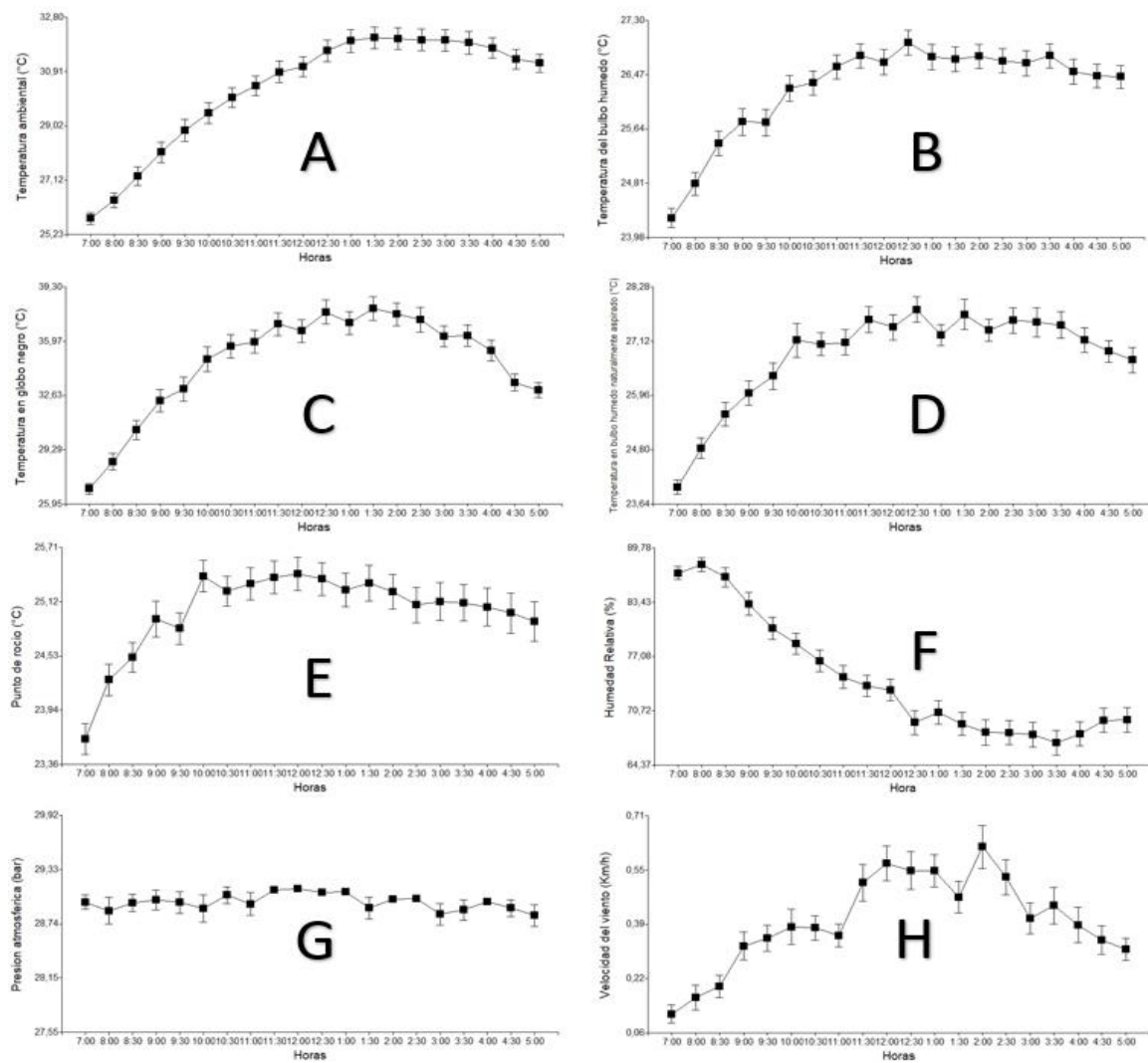
**Tabla 4-1:** Evaluación de la temperatura ambiente (TA), humedad relativa (HR), temperatura de bulbo húmedo (TBH), temperatura en globo negro (TGN), temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA), presión atmosférica (PA), punto de rocío (PR) y velocidad del viento (VV) de Abril a Septiembre\*.

HORA	TA (°C)	HR (%)	TBH (°C)	TGN(°C)	TBHNA(°C)	PA (Hg)	PR (°C)	VV (m/s)
7:00	25,8±0,2	86,8±0,8	24,3±0,2	26,9±0,3	24,0±0,2	29,0±0,10	23,6±0,2	0,12±0,03
8:00	26,4±0,3	87,8±0,8	24,8±0,2	28,6±0,5	24,8±0,2	28,9±0,20	24,3±0,2	0,17±0,04
9:00	28,1±0,4	83,2±1,3	25,7±0,2	32,3±0,7	26,0±0,3	29,0±0,10	24,9±0,2	0,32±0,04
10:00	29,5±0,4	78,6±1,2	26,3±0,2	34,9±0,8	27,1±0,4	28,9±0,20	25,4±0,2	0,38±0,05
11:00	30,4±0,3	74,7±1,4	26,6±0,2	35,9±0,7	27,1±0,3	29,0±0,10	25,3±0,2	0,35±0,03
12:00	31,1±0,3	73,2±1,3	26,7±0,2	36,6±0,7	27,4±0,3	29,1±0,01	25,4±0,2	0,57±0,05
1:00	32,0±0,4	70,5±1,4	26,7±0,2	37,1±0,7	27,3±0,2	29,1±0,02	25,3±0,2	0,55±0,05
2:00	32,1±0,4	68,2±1,5	26,8±0,2	37,6±0,7	27,4±0,2	29,0±0,02	25,2±0,2	0,62±0,06
3:00	32,0±0,4	68,5±1,5	26,6±0,2	36,3±0,6	27,5±0,3	28,8±0,10	25,1±0,2	0,41±0,05
4:00	31,7±0,4	68,0±1,4	26,5±0,2	35,4±0,7	27,1±0,3	29,0±0,02	25,1±0,2	0,39±0,05
5:00	31,2±0,3	69,7±1,4	26,4±0,2	33,0±0,5	26,7±0,3	28,8±0,10	24,9±0,2	0,31±0,03

\* Promedios y desviación estándar, de registros ambientales de los de los días Lunes a Jueves de los meses de Abril a Septiembre de 2018.

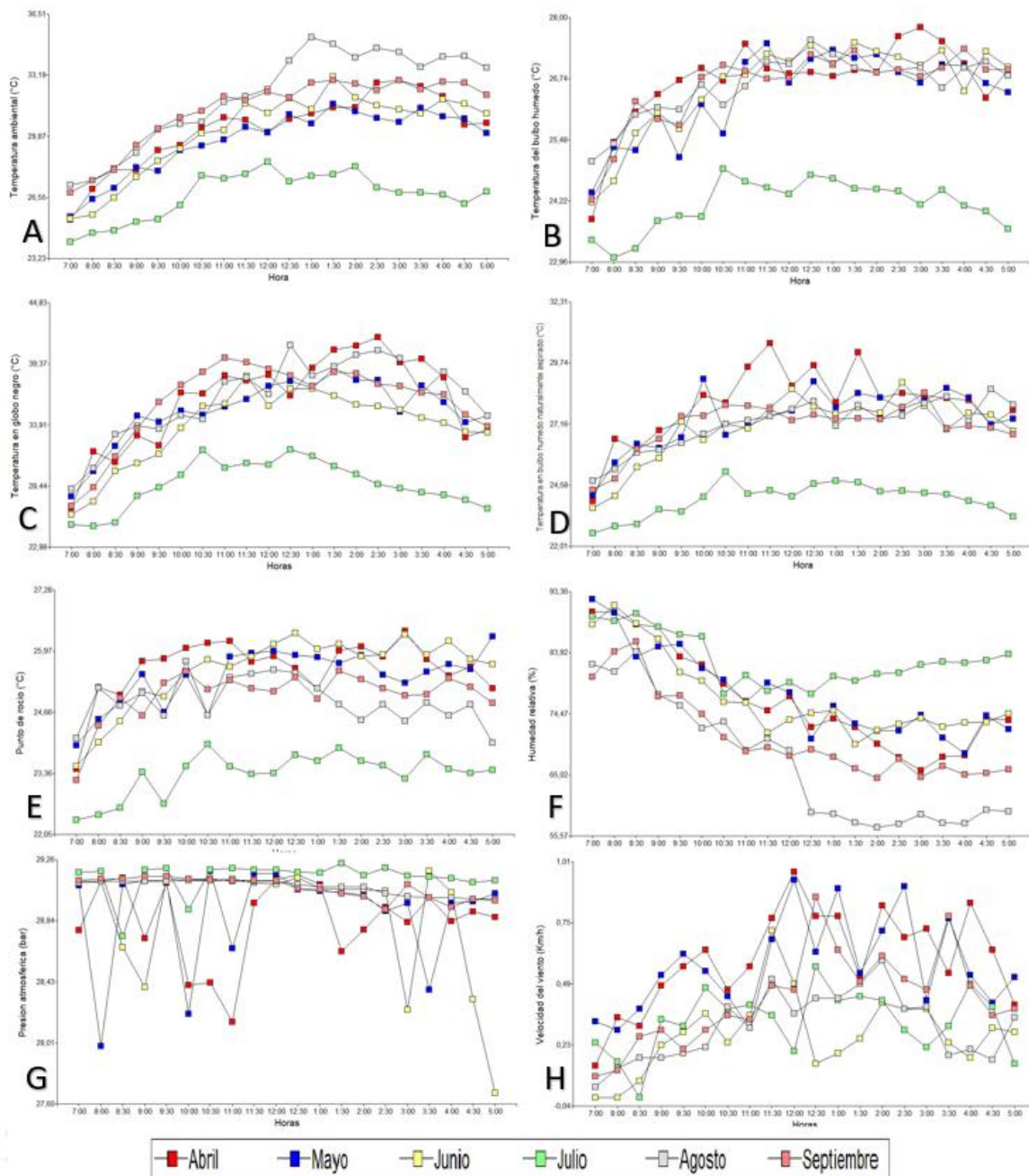


**Figura 4-2:** Evaluación de variables ambientales durante el periodo de abril a Septiembre de 2018 en una región baja de trópico húmedo del piedemonte amazónico.



Al analizar mensualmente el comportamiento de las variables ambientales se encontró que en el mes de Julio se presentaron los valores más bajos en todas las horas del día TA, TBH, TGN, TBHNA y PR (figura 4-3 A, B, C, D y E). En los meses de agosto y septiembre se determinó la mayor TA en el día. La temperatura de 34,6°C fue establecida como el registro más elevado y fue registrada en agosto a las 1:00 p.m.

**Figura 4-3:** Evaluación de variables ambientales por meses en una región baja de trópico húmedo del piedemonte amazónico



El mayor registro de TA se presentó en agosto a las 1:00 p.m. con 34,6°C y en el mes de Julio se presentaron los más bajos a las 7:00 a.m. con 24,0 °C (figura 4-3A). El mes de Julio reportó mayor HR en horas de la tarde de 12 m a 5 p.m.; la hora de mayor reporte fue a las 8:00 a.m. del mes de junio con (91%); Agosto fue el mes que reportó el menor dato con

57% a las 3:30 p.m.; (figura 4-3F). La VV es baja y no presentó tendencia definida, reportándose su mayor valor a las 12:00 m del mes de abril con 0,95 m/seg (figura 4-3H).

#### 4.4.2 Índices relacionados con el estrés calórico.

Los valores del índice de calor (IC) fluctúan en horas de la mañana entre 29,6 y 38,3, llegando al máximo de 40,2 a la 1:00 p.m. La temperatura en globo negro húmedo (ITGNH) se presenta entre 24,7 y 29,0 con un máximo de 30,1 a la 1:00 p.m. El Índice de temperatura humedad (ITH) el menor valor fue 76,7 a las 7:00 a.m. incrementa paulatinamente hasta su máximo valor 83,9 a la 1:00 p.m. El índice de carga de calor humedad y viento (ICC), el menor valor se encontró a las 7:00 a.m. con 77,1 y aumento paulatinamente hasta las 2:00 p.m. que expresó su mayor valor 87,5. El índice de humedad en globo negro (IHGN) oscila en un rango en horas de la mañana de 74,0 a 77,7 y su mayor valor fue de 78,1 presentado a las a las 12:00 p.m. y 3:00 p.m. El índice de temperatura humedad y viento (ITHV) presentó su menor valor en 3,9 a las 7:00 a.m. y el mayor con 27,0 a las 2:00 p.m.

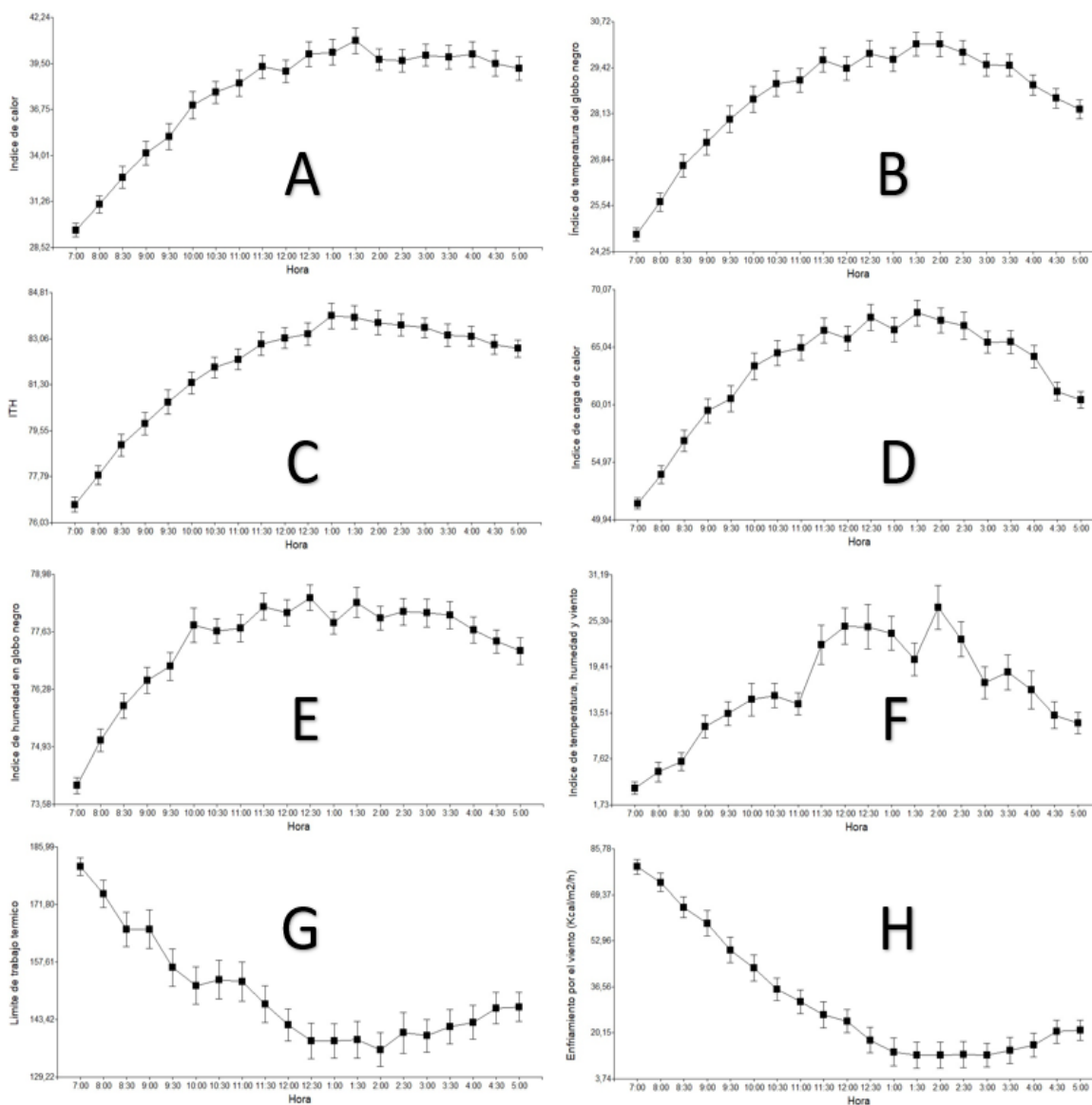
**Tabla 4-2:** Índices relacionados con el estrés calórico: índice de calor (IC), índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), índice de temperatura humedad (ITH), índice de carga de calor húmeda y viento (ICC), índice de humedad en globo negro (IHGN), índice de temperatura humedad y viento (ITHV), índice límite de trabajo térmico (ILTT) e índice de enfriamiento por viento (IEV), evaluados de Lunes a Jueves durante los meses de Abril a Septiembre del 2018.

HORA	IC	ITGNH	ITH	ICC	IHGN	ITHV	ILTT	IEV
7:00	29,6±0,4	24,7±0,2	76,7±0,3	77,1±0,4	74,0±0,2	3,9±0,8	181,2±2,2	79,4±2,7
8:00	31,1±0,5	25,7±0,3	77,9±0,4	80,0±0,7	75,1±0,3	6,0±1,2	174,4±3,4	73,8±3,3
9:00	34,1±0,7	27,3±0,4	79,8±0,4	84,2±0,9	76,5±0,3	11,8±1,4	165,7±4,8	59,2±4,6
10:00	37,0±0,8	28,5±0,4	81,4±0,4	86,6±0,9	77,8±0,4	15,2±2,1	151,8±4,6	43,3±4,6
11:00	38,3±0,8	29,1±0,3	82,3±0,4	87,1±0,9	77,7±0,3	14,7±1,4	152,7±4,8	31,2±4,2
12:00	39,0±0,7	29,4±0,3	83,1±0,4	87,4±0,8	78,1±0,3	24,6±2,4	142,2±3,9	24,3±4,1
1:00	40,2±0,8	29,7±0,3	83,9±0,5	87,4±0,8	77,8±0,3	23,7±2,2	138,2±4,3	13,3±4,9
2:00	39,7±0,6	30,1±0,3	83,7±0,5	87,5±0,9	77,9±0,3	27,0±2,8	136,0±4,2	12,2±4,7
3:00	40,0±0,7	29,5±0,3	83,5±0,4	85,6±0,8	78,1±0,3	17,4±2,1	139,4±4,1	12,2±4,3
4:00	40,0±0,8	28,9±0,3	83,2±0,4	84,3±0,8	77,7±0,3	16,5±2,4	142,7±4,2	15,8±4,3
5:00	39,2±0,7	28,3±0,3	82,7±0,3	81,1±0,6	77,2±0,3	12,2±1,4	146,5±3,6	21,1±3,7

El índice límite de trabajo térmico (ILTT) presentó el mayor valor a las 7:00 a.m. con 181,2 y va descendiendo paulatinamente hasta las 3:00 p.m. que presento el menor valor con

136,0 (figura 4.4 G) y el índice de enfriamiento por viento su mayor valor fue a las 7:00 a.m. con 79,4 y descendió hasta el mínimo reportado a las 3:00 p.m. con 12,2 (figura 4-4 H).

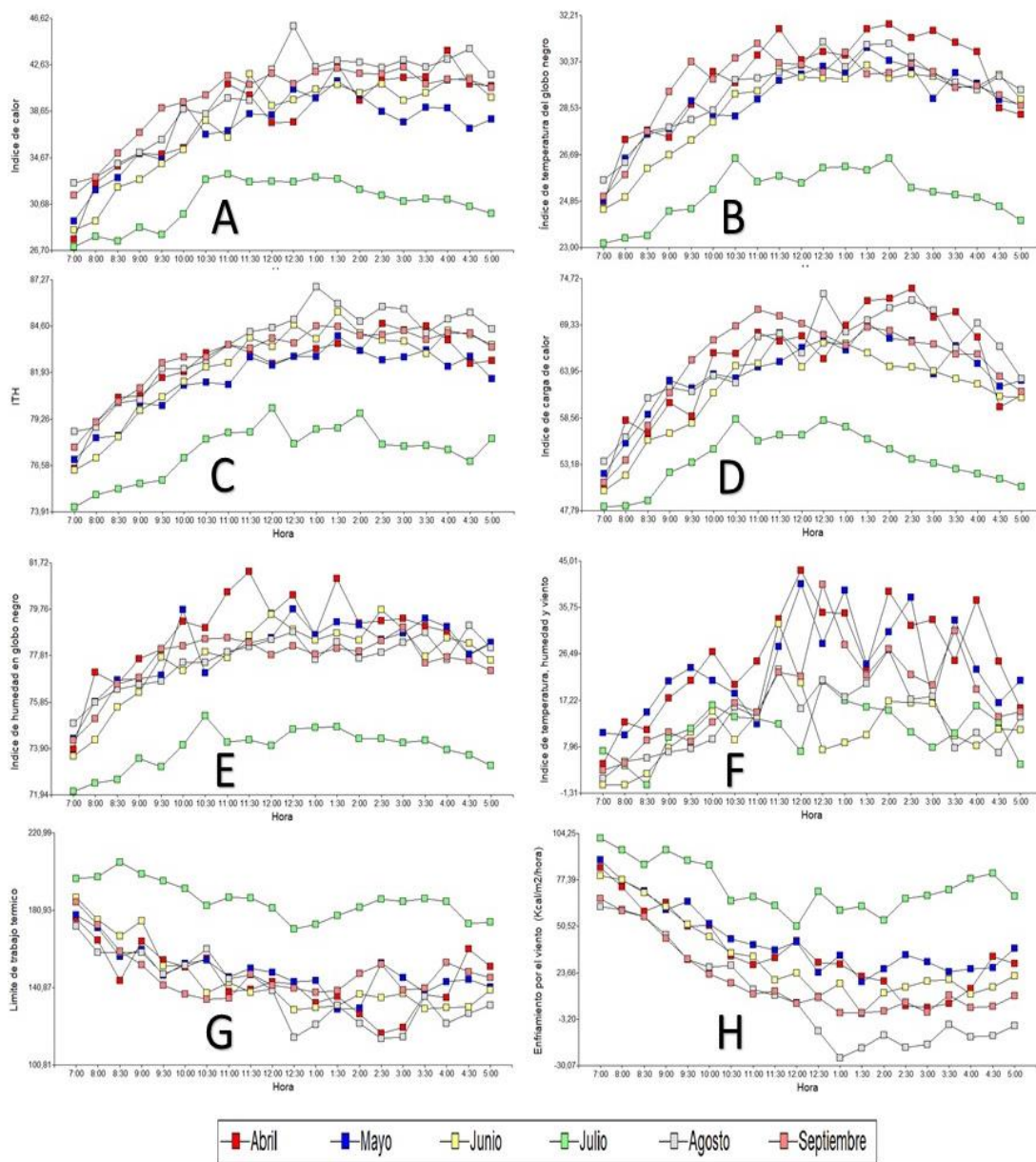
**Figura 4-4:** Evaluación de índices que se relacionan con el estrés calórico en Bovinos



Al evaluar mensualmente los índices relacionados con el estrés calórico, el mes de Julio presentó menores valores en IC, ITGNH, ITH, ICC e IHGN (figura 4-5 A, G, C, D y E) a las 7:00 a.m. (26,9; 23,2, 74,1, 48,0 y 72,1 respectivamente) y en agosto reportó el menor valor para ILTT e IHGN (figura 4-5 G y E) entre 12:30 y 1:00 p.m. (118 y 25 respectivamente).

Los mayores valores para IC, ITH e ICC se presentaron al medio día (12:30 a 1:00 p.m.) de Agosto (46,1; 87,1 y 73,9 respectivamente) y para ITGN e IHGN se presentaron a las 11:30 a.m. de Abril (31,3 y 80,8 respectivamente). En Julio se presentó los mayores valores para ILTT e IHGN los 210 y 104 respectivamente en horas de la mañana (7:00 a 8:30).

**Figura 4-5:** Determinación de índices que estiman el estrés calórico en sistema de producción bovino de trópico bajo húmedo del piedemonte amazónico evaluado durante los días de lunes a jueves en los meses de abril a septiembre de 2018.



#### 4.4.3 Evaluación del comportamiento etológico.

Teniendo en cuenta que las actividades se registraban por animal dentro de los tres tipos raciales, cada media hora 7:00 am, a las 8:00 am y después cada media hora hasta las

cinco de la tarde de lunes a jueves desde Abril hasta Septiembre de 2018, esto permite determinar el promedio (%) de animales dentro de cada grupo racial en la hora requerida.

En la evaluación del pastoreo al sol se encontró que realizan esta actividad en mayor proporción a las 7:00 a.m. En promedio el 77,4%<sup>b</sup> del ganado Caqueteño pastorea a esta hora y el 77,6%<sup>b</sup> de los *B. indicus*, se encontró diferencia significativa ( $p$  0,0179) de estos dos grupos raciales con los *B. taurus* que a esta hora pastorean el 72,9%<sup>a</sup>. La cantidad de animales que pastoreaban por cada una de las razas fueron disminuyendo hasta las 10:00 am, donde presentaron diferencia significativa entre los tipos raciales ( $p$  0,0009), el Caqueteño presentó mayor cantidad de animales pastoreando (45,0%<sup>b</sup>), seguido del *B. indicus* (41,6%<sup>ab</sup>) y en menor porcentaje el *B. taurus* (37,8%<sup>a</sup>), esta tendencia de baja cantidad de animales pastoreando se mantuvo relativamente estable hasta las 2:30 p.m. donde nuevamente la mayor cantidad de animales Caqueteños y *B. indicus* pastoreaban (42,4%<sup>b</sup> y 45,8%<sup>b</sup> respectivamente), presentaron diferencias significativas ( $p$  0,0003), con la cantidad de *B. taurus* (36,6%<sup>a</sup>). En las siguientes horas el pastoreo se incrementa paulatinamente, hasta las 5:00 pm donde fue la última hora de muestreo y donde se encontraron los mayores reportes en el Caqueteño (84,9%<sup>b</sup>) y los *B. indicus* (85,6%<sup>b</sup>) que los *B. taurus* (78,2%<sup>a</sup>).

En la evaluación de la rumia al sol a las 7:00 a.m. se presenta en bajo nivel con diferencia significativa ( $p$  0,0162), entre el promedio del porcentaje de animales Caqueteños (0,3%<sup>a</sup>) y *B. indicus* (0,7<sup>ab</sup>) y *B. taurus* (1,1<sup>b</sup>). Esta actividad va ascendiendo hasta su máximo nivel que se presenta a las 9:00 a.m. en el Caqueteño (8,4%<sup>a</sup>), *B. indicus* (8,7%<sup>a</sup>) y el *B. taurus* (9,3%<sup>a</sup>), sin presentar diferencia significativa ( $p$  0,7191) entre los tipos raciales (figura 4,6 C). Con relación a la rumia en la sombra, a las 7:00 a.m. no hubo diferencia entre los grupos ( $p$  0,3674) y con bajos porcentajes Caqueteño (1,2%<sup>a</sup>), *B. indicus* (0,7%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (0,9<sup>a</sup>) y los mayores valores se presentan a las 2:00 p.m. en Caqueteño (12,5%<sup>a</sup>), *B. indicus* (12,7%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (14,4%<sup>a</sup>) sin expresar diferencias significativas ( $p$  0,3285).

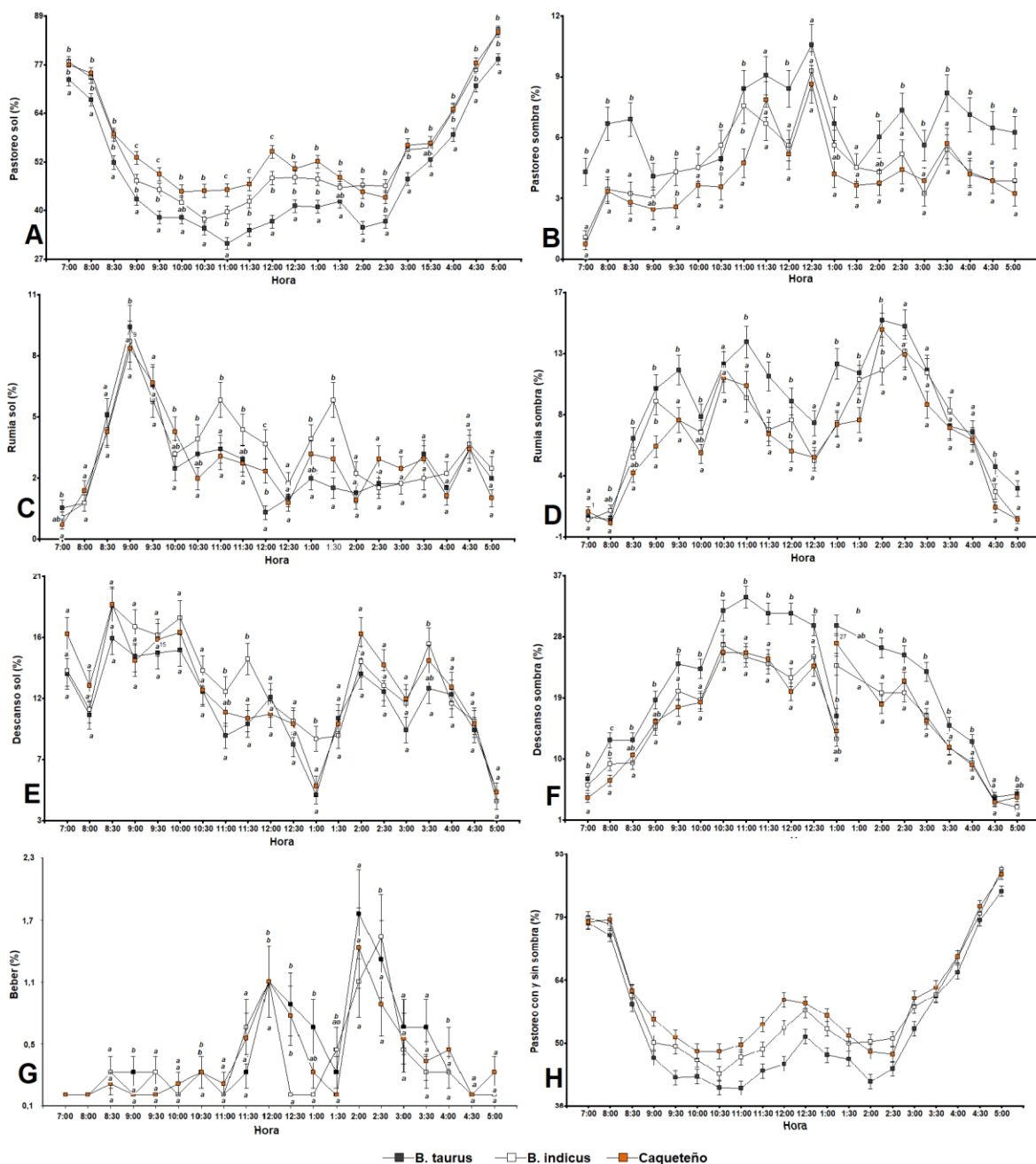
A las 8:30 a.m. los animales de cada grupo descansan con la presencia del sol en mayor proporción, sin tener diferencia significativa ( $p$  0,1872) entre los Caqueteños (19,0%<sup>a</sup>), *B. indicus* (18,7%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (16,2%<sup>a</sup>) y los menores valores se encontraron a la 1:00 p.m.

con Caqueteño (9,8%<sup>a</sup>), *B. indicus* (9,0%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (10,3%<sup>a</sup>) sin presentar diferencia significativa (p 0,6101). La actividad de descanso en la sombra se presenta en bajo nivel a las 7:00 a.m. con diferencia significativa (p 0,0016) en Caqueteño (4,2%<sup>a</sup>), *B. indicus* (6,2%<sup>b</sup>) y *B. taurus* (7,1%<sup>b</sup>), pero el menor valor se encontró a las 4:30 p.m., sin diferencias (p 0,5471) entre el Caqueteño (3,6%<sup>a</sup>), *B. indicus* (3,8%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (4,4%<sup>a</sup>). Esta actividad la realizaron los animales en mayor proporción a las 10:30 a.m., presentando diferencias (p 0,0055) entre el Caqueteño (18,6%<sup>a</sup>), el *B. indicus* (18,9%<sup>a</sup>) y el *B. taurus* (23,6%<sup>b</sup>).

La actividad que menos se registró fue el de beber agua, donde hubo dos momentos en que los valores fueron bajos, a las 8:30 a.m. no hubo diferencia significativa (p 0,5799) entre los Caqueteños (0,09%<sup>a</sup>), los *B. indicus* (0,2%<sup>a</sup>) y los *B. taurus* (0,2%<sup>a</sup>) y también es bajo a las 12:00 m en el Caqueteño (0,7%<sup>b</sup>), los *B. indicus* (0,09%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (0,9%<sup>a</sup>). A las 2:00 p.m. se presentaron los mayores registros Caqueteño (1,1%<sup>a</sup>), *B. indicus* (1,5%<sup>a</sup>) y *B. taurus* (1,8%<sup>a</sup>) sin presentar diferencia (p 0,4980).



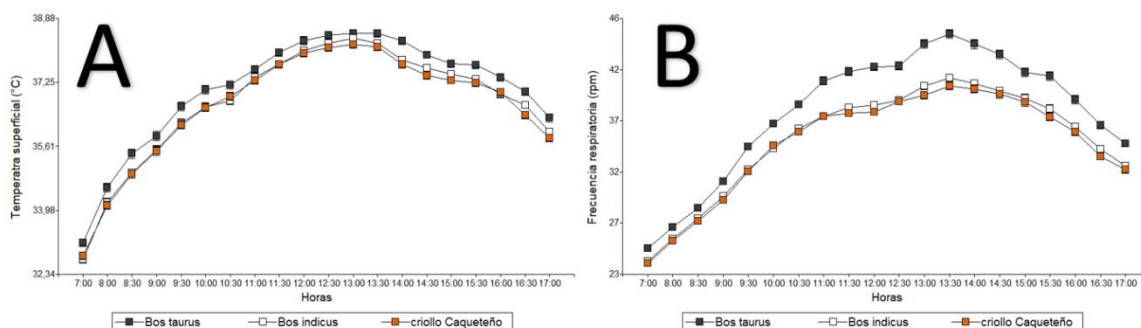
**Figura 4-6:** Evaluación del comportamiento etológico determinando el pastoreo bajo el sol (pasol), pastoreo bajo la sombra (pasom), rumia bajo el sol (rusol), rumia bajo la sombra (rusom), descanso bajo el sol (rusol), descanso bajo la sombra (rusom) y beber (beber) durante los horas del día (7:00 am a 5:00 pm) de bovinos de la raza criollo Caqueteño y vacas cruzadas con mayor proporción de *Bos taurus* o *Bos indicus*.



Los *B. taurus* presentaron mayor temperatura superficial (TS) presentando diferencia significativa, durante todo el día con el Caqueteño y durante la mayor parte del día con el *B. indicus* (figura 4-7 A). La menor TS se encontró a las 7:00 a.m., en los tres tipos raciales el Caqueteño (32,8%<sup>a</sup>), el *B. indicus* (32,7%<sup>a</sup>) presentando diferencia significativa ( $p < 0,0037$ ) con el *B. taurus* (33,2<sup>b</sup>). Este parámetro se incrementó paulatinamente a medida que avanzaba la mañana hasta llegar al valor máximo a la 1:00 p.m. donde se presentaron diferencias significativas ( $p < 0,0283$ ) entre los Caqueteño (38,2<sup>a</sup>), el *B. indicus* (32,7%<sup>ab</sup>) y el *B. taurus* (38,5%<sup>b</sup>), en horas de la tarde se presenta descenso paulatino manteniendo la misma tendencia hasta las 5:00 p.m., presentando diferencias significativas entre los Caqueteños y *B. indicus* con los *B. taurus*, estos últimos siempre expresaron mayor TS.

La frecuencia respiratoria (FR) durante los momentos de muestreo del día siempre fue menor en los Caqueteño y *B. indicus*, presentando diferencia significativa con los *B. taurus*. Las menores FR se presentaron a las 7:00 a.m. (24<sup>a</sup>, 24<sup>a</sup> y 25<sup>b</sup> rpm respectivamente), presentando diferencia significativa ( $p < 0,0001$ ). La FR aumentaba paulatinamente manteniendo la misma tendencia hasta la 1:30 p.m. donde se encontraron los mayores valores (40<sup>a</sup>, 41<sup>a</sup> y 45<sup>b</sup> rpm respectivamente) con diferencia estadística ( $p < 0,0001$ ) (gráfica 4-7B).

**Figura 4-7:** Temperatura de la superficie del pelaje (°T) y frecuencia respiratoria de bovinos de la raza criollo Caqueteño y vacas multirraciales con mayor proporción de *Bos taurus* o *Bos indicus*.



## 4.5 Discusión

### 4.5.1 Variables ambientales relacionadas con el estrés calórico en bovinos.

Para analizar el estrés calórico que presentan los bovinos en un momento determinado, es indispensable evaluar el comportamiento de los parámetros ambientales, analizando las variables que más afectan a los animales. Evaluar los cambios climáticos durante el día y entre los meses, permite estimar su incidencia en la producción de los forrajes (Villalobos & Sánchez, 2010) y en las características fisiológicas y etológicas en los animales (Zimbelman et al. 2009; WingChing & Mora 2015).

La temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) y la velocidad del viento (VV) son variables ambientales que influyen en el estrés calórico en los animales, porque en su conjunto afectan el balance térmico (Arias et al., 2008). Las variables relacionadas con la sensación térmica como la temperatura ambiental (TA), temperatura en bulbo húmedo (TBH), temperatura en globo negro (TGN) y temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA), presentan una tendencia similar, donde las menores temperaturas se presentan en las horas de la mañana e incrementaban hasta la 2:00 p.m. donde expresaban su mayor valor y posteriormente comienzan a descender.

La temperatura ambiental (TA) es el factor más utilizado como un indicador de estrés en las vacas (Cerqueira et al., 2016). Los bovinos para estar en estado de confort térmico requieren 5 a 20°C en *B. taurus* y de 10 a 27°C para *B. indicus*, temperaturas superiores generan estrés calórico (Alzina et al., 2001). En el presente trabajo a las 7:00 a.m. la temperatura promedio fue de 25,8±0,2°C y a las 9:00 a.m. 28,1±0,4; indicando que desde las horas de la mañana hasta las 5:00 p.m. las temperaturas ambientales causan que los animales estén continuamente con estrés calórico. Al analizar mensualmente el comportamiento de las variables ambientales se encontró que agosto y septiembre fueron más calurosos llegando a temperaturas hasta de 34,6°C. El mes de Julio presentó menores temperaturas ambientales, siendo el único mes que reportó temperaturas inferiores a 25°C hasta las 8:30 a.m. En términos generales el promedio de la temperatura ambiental en todo el periodo del día en los meses evaluados fueron superiores al máximo tolerable por los bovinos (>25°C) (Echeverri et al., 2018).

Determinar TGN es valioso, debido a la correlación con la temperatura corporal y frecuencia respiratoria (Souza, 2010), porque describe el efecto combinado de la temperatura del bulbo seco, el movimiento del aire y el calor radiante recibido del ambiente (ASHRAE, 2017) y permite estudiar el comportamiento de búsqueda de sombra de los rumiantes (Hetem et al. (2007). La temperatura del bulbo húmedo (TBH) y temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado (TBHNA) son parámetros que sirven para estimar los efectos causados por estrés calórico (Patel et al., 2013); en el presente trabajo se encontró que TGN es la variable que presentó el mayor registro (37,07°C). La baja velocidad del viento (VV) demuestra que en la zona de evaluación el viento no es un factor favorable que ayude en gran escala en el proceso de termorregulación por convección.

La HR decreció de manera opuesta al aumento de la TA, confirmando lo planteado por Huertas (2008). El rango de mínimo y máximo (68 y 87% respectivamente) demuestra que la zona donde se realizó la investigación es húmeda, causando que los bovinos presentaran menor capacidad de disipación de calor, por la piel y las vías respiratorias, convirtiéndose en la segunda variable más importante para estimar el estrés calórico (Reece, 2009). El mes de Julio reportó mayores niveles de HR en horas de la tarde de 12:00 m. a 5:00 p.m. El mes de mayo reportó el mayor valor (92%) a las 8:00 a.m. Agosto y septiembre reportaron menores HR durante todo el día, hasta el mínimo hallado (57%). La HR es determinante para entender su efecto en el estrés calórico, debido a que acentúa las condiciones adversas cuando la TA supera los 30°C, dificultando la evaporación del sudor y por ende su termorregulación, reduciendo la capacidad de disipar calor tanto de la piel como del aparato respiratorio del animal (Arias et al., 2012; Nascimento et al., 2006), en el departamento del Caquetá la HR en promedio es alta (84,2%) por lo tanto la región presenta un alto potencial para la presencia de estrés calórico en las horas del día.

En términos generales se evidencia que entre periodos de tiempo evaluados (en este caso dentro del día y entre meses) las variables ambientales presentan cambios significativos (figuras 4,2 y 4,3).

Los datos encontrados de TA (25,8°C – 32,1°C), a los 19,2°C – 29,7°C encontrados en zona tropical (Regalado & Álvarez, 2020), y a los 23 °C (Molina et al., 2016) y se encuentran

dentro del rango de 28,6 - 32,7 °C reportado por García et al., (2013), hay mayor similitud con los datos reportados con el último trabajo debido a que también se realizó en zona ecuatorial. En el presente trabajo la HR reporto valores de 68% - 87.8%, las cuales son superiores a los 70,1% – 80,4% encontradas por Cerqueira et al., (2016) y el 80% reportado por Molina et al. (2016) y están dentro del rango de 53,8 - 85,1 (García et al., 2013). En términos generales se encuentra que los trabajos realizados en zonas tropicales y ecuatoriales en regiones bajas, las características de temperatura ambiental y humedad relativa son superiores a los 27°C y HR superiores al 68% lo cual genera condiciones ambientales con potencial para la expresión de estrés calórico en bovinos y la baja velocidad del viento encontrado en este trabajo (0,12 - 0,62 m/s), el cual es coherente con lo reportado por Molina et al., (2016) (2,5 m/s) y García et al., (2013) (hasta 2,8 m/s), limitando la pérdida de calor por convección.

#### **4.5.2 Índices relacionados con el estrés calórico**

La mayoría de los índices inicialmente se usaron para determinar la incidencia de las características climáticas en el rendimiento del ser humano, en la actualidad también se usan en investigaciones con animales, debido a que se relacionan con el comportamiento fisiológico y etológico causado por el estrés calórico. Se encontró que el índice de calor (IC), índice de temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), índice de temperatura humedad (ITH), índice de carga de calor, humedad y viento (ICC), índice de humedad en globo negro (IHGN) el índice de temperatura humedad y viento (ITHV), presentan similar tendencia, bajos datos en horas de la mañana (29,6; 24,7; 76,6; 51,4; 74,0 y 3,9 respectivamente) y los mayores valores al mediodía (40,2; 30,1; 83,9; 67,4; 78,1 y 27,0), los valores reportados demuestran que en esta región de trópico bajo las condiciones climáticas son adversas al confort térmico en el periodo de 7:00 a.m. a 5:00 p.m.

El índice de calor (IC) se estima en función de la temperatura y la humedad relativa, que proporciona una medida de la transferencia evaporativa y radiante de calor entre un ser vivo típico y el entorno, el índice originalmente es una correlación lineal entre temperatura y humedad del ambiente (Kim et al., 2006). Según los resultados de las 7:00 a las 8:00 a.m. el IC osciló entre 29,6 y 31,1, exponiendo a los animales a presentar fatiga con una exposición prolongada y/o actividad física y desde las 9:00 a.m. a las 5:00 p.m. con IC de

34,1 hasta 40,2 (figura 4-4A) los animales pueden presentar calambres y agotamiento por calor con exposición prolongada y/o actividad física (Zahid & Rasul, 2010).

El índice de temperatura en globo negro y humedad (ITGNH) usan el punto de rocío (PR) y la temperatura en globo negro (TGN), como variables para simular lo que puede ser la sensación térmica en los animales (Velazco & Rovira, 2012) y así demostrar el efecto que tiene los cambios en las variables sobre el comportamiento y fisiología en animales (Gomes et al., 2011), en términos generales Zimbelman et al., (2009), reportaron que el ITGNH y el ITH, presentan similar tendencia en la expresión del estrés calórico, lo cual se evidenció en el presente trabajo (figura 4-4 B y C). Los valores de ITH siempre fueron superiores a 72, causando estrés calórico (figura 4-4C) (Schüller et al., 2013)(López et al., 2016). De las 7:00 a.m. a 8:00 a.m. expresaron valores entre 72-78 generando un nivel de alerta de estrés calórico, de las 9:00 a.m. a las 11:00 a.m. y a las 5:00 p.m.; reportó valores de 78-83 que se considera en peligro y de las 12:00 m a las 4:00 p.m. presentan valores superiores a 83, es el periodo donde las condiciones climáticas generan un estado de emergencia (Ríos et al., 2013 y Olivares, 2014).

Teniendo en cuenta la escala para ICC planteada por Gaughan et al., (2008), los animales siempre estuvieron bajo condiciones ambientales calientes ( $> 77 < 86$ ) y de 10 a.m. a 2:00 p.m. estaban bajo condiciones muy calientes ( $> 86$ ). El índice límite de trabajo térmico (ILTT) se creó para estimar el efecto del estrés calórico en humanos expuestos al trabajo al aire libre, utilizando cinco parámetros ambientales (temperaturas de bulbo seco, bulbo húmedo, temperatura del globo; velocidad del viento y presión atmosférica); según la tabla de Chan et al., (2013), los animales de 7:00 a 12:00 m y de 4:00 a 5:00 p.m. con valores entre 141-220 W/m<sup>2</sup> requiere que los animales estén aclimatados o adaptados y de 1:00 a 3:00 p.m. por estar entre 115-140 W/m<sup>2</sup> necesitan estrategias de amortiguación para sobrepasar el estrés calórico (figura 4-4G).

El índice enfriamiento por el viento (IEV) fue desarrollado para evaluar el estrés climático en condiciones de temperaturas bajo cero (estrés por frío). Se puede definir como la cantidad de calor que el viento moviliza, para lo cual se utiliza la ecuación que calcula el poder de enfriamiento en la atmósfera y en la sombra sin tener en cuenta la evaporación

del cuerpo en una superficie abierta. Los valores hallados según Al-Taai & Saleh, (2017), de las 7:00 a.m. a las 9:00 a.m. indican que es una zona cálida con valores entre 50 y 99 y desde las 10:00 a.m. hasta las 5:00 p.m. los animales se encuentran por fuera del confort térmico, clasificada como caliente con niveles entre 0 y 49 (figura 4-4H).

El índice del límite de trabajo térmico (ILTT) y el índice de enfriamiento por viento (IEV) son inversamente proporcional con la temperatura es decir a mayor temperatura menor es la capacidad de los animales para realizar actividades que conlleve esfuerzo físico como desplazamiento o pastoreo y menor es la capacidad de perder temperatura ayudado por la poca presencia del viento en la región en el periodo evaluado (figura 4-5 G y H). Las tendencias que presentan todos los índices relacionados con el estrés calórico demuestran que los animales están desde las 7:00 a.m. hasta las 5:00 p.m. en riesgo de presentar estrés calórico y en las horas del mediodía de 11:00 a.m. a 2:30 p.m. los niveles expresados por los índices muestran que pueden afectar drásticamente al animal (figura 4-5 A, B, C, D, E, F, G y H).

Determinar un índice relacionado con el estrés calórico evaluando las condiciones ambientales permite estimar con anterioridad los momentos donde pueda presentarse las condiciones climáticas que afectarán la producción y salud de los animales. En las curvas de tendencias de los índices relacionados con el estrés calórico, se encontró que en todos los meses desde las horas de la mañana las condiciones climáticas son altas y propensas a generar estrés calórico, pero el mes de Julio presenta mayor humedad relativa y menor temperatura ambiental generando mejores condiciones que los otros meses, mientras que el mes de Agosto es el mes con valores que indican mayor estrés calórico, reflejado en los índices IC, ITGNH, ITH, ICC, IHGN, ILTT e IEV. El único índice que no presentó diferencias marcadas entre los meses fue el ITHV.

### 4.5.3 Cambios en el comportamiento etológico como respuesta al estrés calórico.

Los bovinos en horas de la mañana ( $\leq 8:00$  a.m.) y finalizando la tarde ( $\geq 4:00$  p.m.) se dedican mayoritariamente al pastoreo, las curvas de tendencia indican que los bovinos realizan el pastoreo en horas de la madrugada hasta primeras horas de la mañana y bien avanzada la tarde hasta las horas de la noche (Petryna & Bavera, 2002; Valdés et al., 2006), entre las 10:00 a.m. a las 2:30 p.m. se disminuye el pastoreo y se incrementa entre más se aleje del medio día donde la temperatura ambiental es mayor. Los criollos Caqueteños pastorearon durante mayor tiempo, presentando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con los animales *B. taurus* durante todo el día, mostrando que cuando aumentaba la temperatura ambiental la diferencia entre estos tipos raciales era mayor. Cuando se comparó el pastoreo en el grupo de los *B. indicus* con el grupo de Criollo Caqueteño, solo presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) desde las 11:00 a.m. hasta las 12:00m (figura 4-6 A). Estos resultados podrían ser explicados desde la composición genética de los criollos Caqueteños que le da mayores condiciones de adaptación, tolerando mejor las condiciones climáticas adversas. Los animales cruzados con mayor influencia de los *B. taurus* durante las horas del día de 7:00 a.m. a 5:00 p.m. consumen menos alimento al compararlos con animales cruzados que tienen mayor incidencia del *B. indicus* y los Caqueteños, lo que permitiría pensar que este tipo de animales debe tener mayor actividad en las horas de la noche como mecanismo de compensación.

Los cambios climáticos en la temperatura ambiental afectaron en menor grado al Caqueteño, aunque las condiciones ambientales eran similares para todos los grupos raciales evaluados, los más afectados fueron los *B. taurus*, mostrando un menor grado de adaptación, lo cual coincide con la observación de que los grupos raciales menos adaptados a las condiciones climáticas cambian los requerimientos de nutrientes, disminuyendo el consumo voluntario de materia seca (Arias et al., 2008; Conrad, 1985; FONADE & IDEAM, 2013).

De acuerdo con la literatura las altas temperaturas afectan los bovinos menos adaptados al estrés calórico disminuyendo notoriamente el pastoreo, lo que se observó en el grupo de los cruces de *B. taurus*, y esto es debido a que se afecta en mayor nivel la actividad de la



glándula tiroides que produce las hormonas tiroxina y triyodotironina encargadas de la termogénesis, que a su vez regula la tasa de paso de los alimentos (Habeeb, 1992). Otro aspecto que podría aportar a explicar la disminución del pastoreo en las horas de mayor calor, es el hecho de que el procesamiento de la materia seca aumenta la producción de energía metabólica resultado de la fermentación microbiana y procesos digestivos; fenómeno conocido nutricionalmente como incremento térmico; el cual aumenta cuando los animales se alimentan con forrajes fibrosos de baja calidad; por eso la tendencia en estas condiciones ambientales es un comportamiento que permita una compensación para nivelar su temperatura y recuperar su confort, minimizando su metabolismo y disminuyendo la termogénesis (Mejía, 2014).

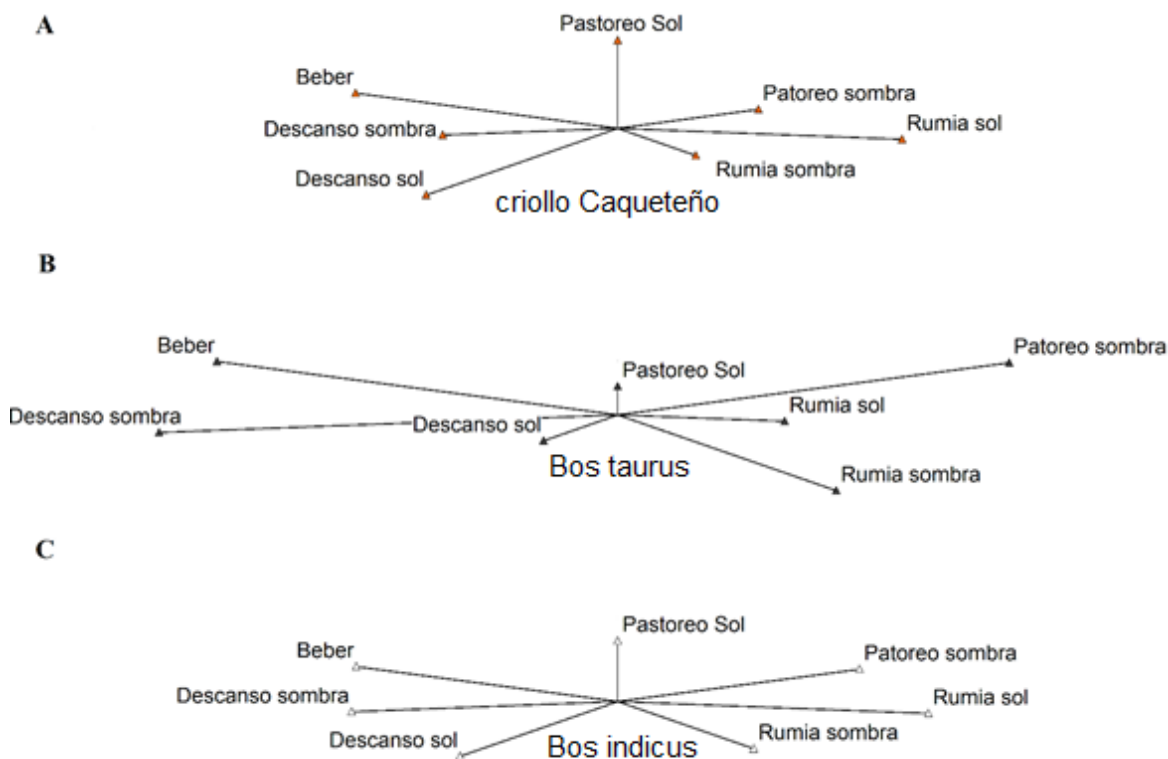
Cuando los bovinos presentan un proceso de estrés calórico disminuyen el consumo de alimento y aumentan el consumo de agua para incentivar el mecanismo de evaporación y así incrementar la disipación del calor. Adicionalmente buscan lugares frescos y sombreados donde descansar o rumiar (Badillo, 2018; Carmona et al., 2013). Sin embargo, ubicarse bajo el dosel de un árbol para aprovechar la sombra, ayuda a disminuir la temperatura; pero simultáneamente aumenta la HR, agudizando el efecto de estrés causado por la alta temperatura (Jose et al., 2004 y García et al., 2013)

El aumento de la temperatura ambiental incrementa la temperatura corporal de los animales (Pérez et al., 2008; Suárez et al., 2012), pero esta respuesta está influenciada por el grado de adaptación que tenga el tipo racial (Betancourt et al., 2003). Por eso la TA es la principal medida climática utilizada para estimar el estrés (Da Silva, 2006). En el presente estudio las condiciones de estrés climático afectaron en mayor medida la actividad de pastoreo al sol, lo cual coincide con lo reportado por Dorvilus (2018), donde evaluó vacas Holstein y cruzadas en México. El evaluar las características climáticas y los índices relacionados con el estrés calórico permitió determinar que el pastoreo está influenciado negativamente por la temperatura ambiental, tal como lo planteo Pérez et al. (2008) en evaluación de toros encastados entre Pardo Suizo y Cebú en México.

Otro aspecto que pudo haber incidido en la disminución del consumo de alimento en el grupo de bovinos procedentes de cruces con mayor tendencia de *B. taurus*, fue su pelaje

de color negro, debido a que la tonalidad afecta los procesos de termorregulación, de tal manera que entre más oscuro sea el color de la superficie tegumentaria menor será el grado de emisividad calórica (Araúz, 2017). El comportamiento de los *B. taurus* cuando aumenta la temperatura ambiental y la humedad relativa por encima de los niveles de confort, es la búsqueda de áreas sombreadas para recuperar su estado de confort, para, pastorear, rumiar o descansar (figura 4-6 B, D y F) (Carmona et al., 2013). Los *B. taurus* para intentar compensar sus bajos consumos de alimento en sol, incrementa el consumo en la sombra, siendo mayor que los *B. indicus* y los Caqueteños (figura 4-8 B).

**Figura 4-8:** Gráfico de estrella en la evaluación de las actividades etológicas entre los criollos Caqueteños, cruces multirraciales de tendencias hacia *Bos taurus* o *Bos indicus*.



Los bovinos Caqueteños presentaron mayor pastoreo, rumia y descanso bajo los rayos directos del sol (figura 4-8 A), demostrando que toleran las condiciones de estrés calórico mejor que los *B. indicus* y los *B. taurus*. El tipo racial más afectado por las condiciones

climáticos fue los *B. taurus*, disminuyendo las actividades bajo la influencia del sol, principalmente el pastoreo (figura 4-8B) e incrementando la bebida de agua y la búsqueda de la sombra donde descansaba y rumiaba.

De los tres grupos raciales, los bovinos criollos Caqueteños son los que mayor tiempo pastorean, rumian y descansan en el sol (figura 4-8A). Este comportamiento demuestra que son animales adaptados a soportar las adversidades del clima presentadas en la región de trópico bajo, en especial las altas temperaturas ambientales y humedad relativa, similar tendencia presentan los *B. indicus* (figura 4-8C).

#### **4.5.4 Variaciones en la temperatura superficial y frecuencia respiratoria como respuesta al estrés calórico.**

Las variables fisiológicas que permiten estimar la respuesta al estrés calórico son la frecuencia respiratoria y temperatura superficial, los cambios en estos parámetros fisiológicos sirven para medir el nivel de confort o estrés animal y la capacidad de adaptación a ambientes adversos (Hemsworth et al. 1995).

La temperatura superficial (TS), presentó los menores datos en los Caqueteños, *B indicus* y *B. taurus* a las 7:00 a.m. (32,72<sup>a</sup>; 32,83<sup>a</sup> y 33,15<sup>b</sup> respectivamente) y los mayores a la 1:00 p.m. (38;21<sup>a</sup>; 38,37<sup>a</sup> y 38.50<sup>b</sup> respectivamente), estos últimos son superiores a los reportados por Santos et al., (2005), en Nelore (34,93°C) y la raza criolla Pantaneira (35,32°C) o a las reportadas por Cardoso et al., (2016) en Nelore y Pantaneiro (36,45°C y 36,67°C) e inferiores a las temperaturas rectales en las mismas razas (39,43°C y 39,05°C respectivamente). Las diferencias con la temperatura superficial halladas con Santos et al., (2005) y Cardoso et al., (2016) se debe a que en las regiones donde ellos evaluaron los animales no estaban bajo el efecto de estrés calórico. Los datos reportados se encuentran dentro del rango (35,7±0,13°C – 38,5±0,13°C), reportado por Olivera Atenssia & Lezcano Bollini (2019).

La TS en el presente trabajo ratificó lo encontrado por Olivera & Lezcano (2019), la temperatura superficial del pelaje de los bovinos presenta variación muy relacionada con la

temperatura ambiental, permitiendo concluir que el incremento de la TS está más relacionada con los cambios en temperatura ambiental y no con los procesos metabólicos.

Las altas temperaturas generaron cambios fisiológicos, como el aumento en la tasa de respiración y la frecuencia respiratoria para perder calor y mantener el balance térmico (Silanikove, 2000). Las temperaturas ambientales y humedades relativas siempre fueron superiores a 27°C y 70% respectivamente, son las máximas tolerantes en zona de confort ambiental para los animales (Alzina et al. 2001), datos superiores generan estrés calórico en los bovinos, indicando que en esta investigación los animales siempre estuvieron en condiciones climáticas que superaban el máximo planteado, que generaron estrés calórico. Celmira et al. (2011), reporta que los *B. taurus* presentan mayor frecuencia respiratoria, lo cual fue ratificado en el presente trabajo donde se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con los *B. indicus* y los criollos Caqueteños, uno de los factores que puede ayudar a explicar este fenómeno es que los *B. taurus* presentaban pelaje negro y los *B. indicus* y criollo Caqueteño pelajes blancos y colorado claro respectivamente, según Brown-Brandl et al. (2006), las razas con pelajes oscuros presentan mayor frecuencia respiratoria y temperatura superficial que los animales con pelajes claro.

Los menores registros de FR en los Caqueteños, *B. indicus* y *B. taurus* se presentaron a las 7:00 a.m. (23,8<sup>a</sup>; 23,9<sup>a</sup> y 25,1<sup>b</sup> p.m. respectivamente), durante las horas de la mañana seguían incrementando hasta la 1:30 (40<sup>a</sup>, 41<sup>a</sup> y 45<sup>b</sup> p.m. respectivamente) (grafica 3-7B). Los datos encontrados son menores a los reportados en la literatura cuando los animales presentan ITH de 78 criollos Chinampos a 46 p.m., Charolais x Brahman 48,2 p.m.; Holstein 69,6 p.m. y Jersey 67,9 p.m. (Espinoza et al., 2011).

Cuando los animales se encuentran en estado de confort térmico, la frecuencia respiratoria (FR) por minuto varía dependiendo del tipo racial y las diferencias se agudizan cuando los animales están en estrés calórico. Como los planteó Espinoza et al. (2011), al evaluar animales criollos Chinampos, cruces entre Charolais x Brahman, razas puras Holstein y Jersey, demostrando que los criollos y los cruces presentaban FR menores que los de las razas taurinas en ITH superiores de 78. Esto demuestra que la FR es una variable útil para evaluar el estrés calórico en los bovinos y es sensible para determinar diferencias entre

razas o grupos raciales. Lo cual se ratificó en el presente trabajo donde la FR siempre fue menor en los criollos Caqueteños, seguido de los cruces *B. indicus* mientras el grupo *B. taurus* presentó los reportes más altos. Estas diferencias en las frecuencias respiratorias en *B. taurus* durante todo el día son estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a los otros grupos.

El aumento de la frecuencia respiratoria se presenta como un mecanismo de termorregulación que ayuda a bajar la temperatura debido que se aumenta la evaporación de agua porque se humedecen las vías respiratorias (Olivera Atenssia & Lezcano Bollini, 2019).

#### 4.5.5 Análisis del comportamiento etológico y cambios fisiológicos en los bovinos.

En el análisis de componentes principales (ACP) se obtuvieron 6 grupos, los cuales explicaron el 95,4% de la varianza total, pero los tres primeros componentes principales CP explicaron el 78% de la variación total (tabla 4-3), el CP1 explicó en 52,2% la variabilidad que se identificó como variables fisiológica y del comportamiento rumia en la sombra, el CP2 (16.4%) se reconoció como el componente que identificó el comportamiento etológico, el CP3 (9,4%) se reconoció como edad de los animales.

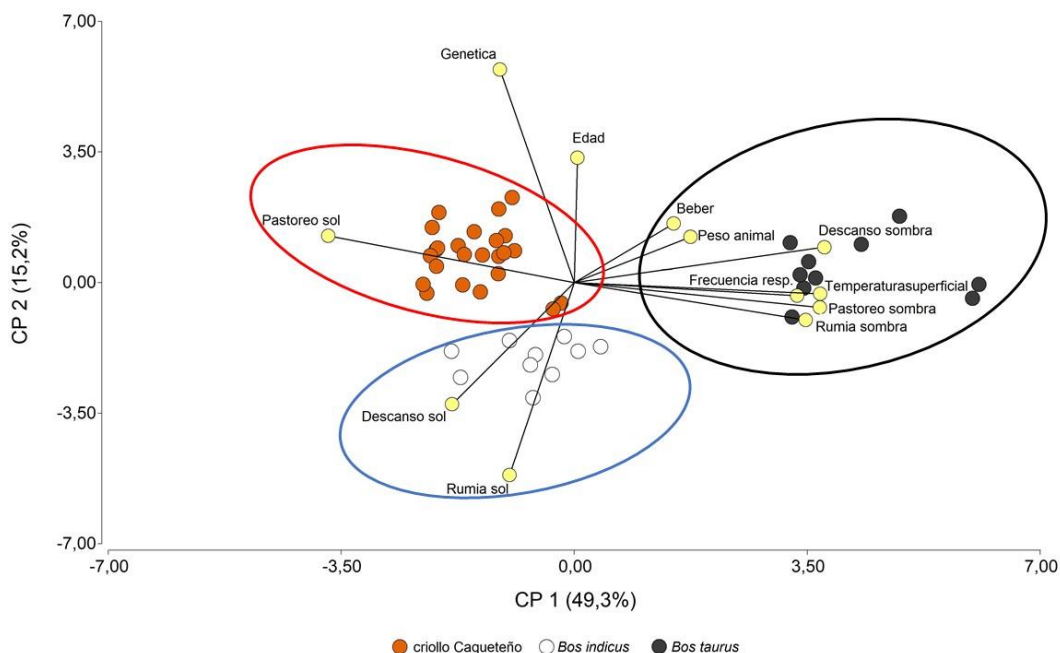
**Tabla 4-3:** Matriz de componentes principales de las actividades de comportamiento etológico de bovinos criollo Caqueteño, tipos raciales *B. taurus* y *B. indicus*.

Variables	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
Pastoreo sol	-0,4	0,13	-0,12	-0,12	-0,21	0,1
Pastoreo sombra	0,4	-0,06	0,03	-0,15	-0,04	0,06
Rumia sol	-0,1	-0,56	0,19	0,36	-0,46	0,19
Rumia sombra	0,37	-0,1	0,15	0,04	0,23	-0,44
Descanso sol	-0,2	-0,38	0,24	0,36	0,66	0,16
Descanso sombra	0,4	0,11	-0,01	0,02	0,07	-0,1
Beber	0,16	0,18	-0,44	0,75	-0,21	-0,15
Temperatura superficial	0,36	-0,03	0,003	-0,12	-0,11	0,7
Frecuencia respiratoria	0,4	-0,03	0,09	0,15	0,04	0,23
Edad	-0,002	0,33	0,81	0,15	-0,31	-0,14
Genética	-0,13	0,59	0,08	0,27	0,29	0,37
Varianza (%)	52,2	9,4	8,3	5,8	3,3	16,4

Acumulado (%)	52,2	68,6	78	86,3	92,1	95,4
---------------	------	------	----	------	------	------

El componente uno representa las variables reconocidas como fisiológicas temperaturas superficiales, frecuencia respiratoria se relacionan positivamente con las variables etológicas descanso y rumia en la sombra, indicando que son las principales actividades que realizan los animales cuando se eleva la TS y FR, algo contrario se presenta con la variable pastoreo sol con quienes tienen relación negativa, es decir que a mayor TS y FR los animales disminuyen esta actividad.

**Figura 4-9:** Biplot de variables etológicas de bovinos de la raza criollo Caqueteño y tipos raciales *B. taurus* y *B. indicus*.



En el Biplot de las variables de comportamiento etológico, las variables de respuesta fisiológicas, la edad y los grupos raciales (figura 4-9), evidencia agrupamiento cercano entre los bovinos criollos Caqueteños y *B. indicus*, estos a su vez presentan un mayor distanciamiento con los *B. taurus*. Los mayores valores de la frecuencia respiratoria, temperatura superficial y las actividades desarrolladas en la sombra (pastoreo, rumia y descanso) están asociadas a los *B. taurus*, las actividades que se asocian más a los *B. indicus* son la rumia y descanso con sol y la principal actividad desarrollada por los criollos Caqueteños es el pastoreo al sol.

El distanciamiento de los *B. taurus* (figura 4-9) evidencia la diferencia marcada en el comportamiento y en las respuestas a las variables fisiológicas con los Caqueteños y *B. indicus*.

#### **4.5.6 Análisis de correlaciones entre variables asociadas al estrés calórico.**

Al analizar la temperatura superficial del pelaje de los animales (TS), se encontró que presentó relación positiva con TBH, ITHV, TBHNA, ITH, IHGN en un nivel moderado ( $<0,69$ ) y con TA, TGN, IC, ITGNH, ICC en un alto nivel (0,70 y 0,89) y correlación negativa con HR, ILTT e IEV en un nivel moderado ( $<-0,69$ ). La TS es una variable sensible ideal para evaluar el estrés calórico demostrado en la relación directamente proporcional con las variables ambientales TGN, TA, TBHNA, PR, TBH, donde se destacan los altos valores de las dos primeras (0,73 y 0,72) y con los índices ICC, ITGNH, IC, IHGN, ITH, ITHV, donde resaltan los valores de los cinco primeros (0,73; 0,72; 0,71; 0,54 y 0,50). La TS presenta una relación inversamente proporcional con las variables HR, IEV e ILTT, destacándose por sus valores las dos primeras (-0,66 y -0,59).

Al analizar la frecuencia respiratoria (FR), presentó relación positiva con VV, PR, TGN, TBHNA y TBH en un nivel medio (0,25 – 0,49). La FR es una variable sensible ideal para evaluar el estrés calórico demostrado en las relación directamente proporcional con las variables ambientales VV, PR, TGN, TBHNA y TBH donde se destacan los valores de las tres primeras (0,42; 0,38 y 0,33) y con los índices ITHV, ITGNH, ICC, IHGN, IC e ITH donde resaltan los valores de los cuatro primeros (0,44; 0,38; 0,32 y 0,32), además de una relación inversamente proporcional con el índice ILTT, destacándose por su nivel de correlación (-0,33).

**Tabla 4-4:** Asociación de variables de comportamiento etológico pastoreo bajo sol (Pasol), pastoreo bajo sombra (Pasom), rumia bajo sol (Rusol), rumia bajo sombra (Rusom), descanso bajo sol (Desol), descanso bajo sombra (Desom), beber, temperatura superficial (TS) y frecuencia respiratoria (FR)

Variable	<i>B. indicus</i>		<i>B. taurus</i>		Caqueteño	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
Pasol (h/día)	5,39b	0,19	4,75a	0,27	5,61c	0,13
Pasom (h/día)	0,49b	0,01	0,67c	0,05	0,43a	0,04
Rusol (h/día)	0,38b	0,01	0,31a	0,03	0,33a	0,04
Rusom (h/día)	0,72b	0,08	0,88c	0,11	0,65a	0,04
Desol (h/día)	1,27b	0,08	1,12a	0,06	1,23b	0,09
Desom (h/día)	1,62a	0,08	2,09b	0,09	1,62a	0,06
Beber (h/día)	0,03a	0,00	0,04b	0,01	0,038ab	0,01
TS (7:00am)	32,72a	0,09	33,15b	0,09	32,83a	0,09
FR (7:00am)	23,91a	0,17	25,08b	0,17	23,80a	0,11
TS (1:00 pm)	38,40a	0,12	38,70b	0,08	38,10a	0,08
FR (1:00pm)	40,70a	0,31	47,01b	0,67	39,5a	0,65

Las variables de comportamiento etológico pastoreo bajo sol (Pasol), pastoreo bajo sombra (Pasom), rumia bajo sol (Rusol), rumia bajo sombra (Rusom), descanso bajo sol (Desol), descanso bajo sombra (Desom) es la distribución del tiempo de estas actividades durante el día, datos obtenidos de la evaluación de los meses de Abril a Septiembre observando a los animales. La frecuencia respiratoria y temperatura superficial se evaluaron las horas 7:00 am por ser de baja temperatura ambiental y a la 1:00 pm por ser presentar la mayor TA.

Los criollos Caqueteños pastoreando bajo el sol (5,61 h/día), presentó diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) Con el *B. indicus* (5,39 h/día) y con el *B. taurus* (4,75 h/día). El criollo Caqueteño era el menos afectado por la presencia del sol. Los cruces donde predominaban los *B. taurus* como mecanismo de compensación eran los que más tiempo dedicaban a pastorear en la sombra (0,88 h/día), presentando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con los Caqueteño (0,43 h/día) y *B. indicus* (0,49 h/día).

En la Rumia el que más realizaba esta actividad bajo el sol (Rusol) fueron los *B. indicus* (0,38 h/día), presentando diferencias con los Caqueteños (0,33 h/día) y *B. taurus* (0,31 h/día). La rumia en la sombra es otra actividad que realizaron por más tiempo los *B. taurus* (0,88 h/día), presentando diferencias significativas con los *B. indicus* (0,72 h/día) y con los criollos (0,65 h/día).



El descanso bajo el sol lo realizaron en mayor proporción sin presentar diferencias significativas entre los *B. indicus* (1,27 h/día) y los Caqueteños (1,23 h/día), pero el *B. taurus* se diferenció significativamente con un menor valor (1,12 h/día). En el descanso en la sombra volvió el *B. taurus* a realizarlo en mayor proporción (2,09 h/día), presentando diferencias significativas con el *B. indicus* (1,62 h/día) y el Caqueteño (1,62 h/día).

El tiempo que los animales destinan a tomar agua el *B. taurus* y el *B. indicus* presentaron diferencias significativas (0,04 y 0,03 h/día respectivamente) y el Caqueteño (0,038 h/día).

En Términos generales el *B. taurus* dedico mayor tiempo a realizar las actividades bajo la sombra (3,64 h/día), seguido del *B. indicus* (2,83 h/día) y el que menor tiempo estuvo bajo la sombra fue el Caqueteño (2,7 h/día), por lo tanto, el *B. taurus* era el más afectado por la presencia de los rayos del sol. Si se analizan los resultados teniendo en cuenta la sumatoria de las actividades realizadas bajo el efecto de los rayos del sol (pastoreo, rumia y descanso), se encuentra que el Caqueteño es que más tiempo está bajo el sol (7,17 h/día) seguido delo *B. indicus* (7,04 h/día) y el que menos tiempo se expone a los rayos solares son los *B. taurus* (6,18 h/día).

Al analizar las temperaturas superficiales (TS) y frecuencias respiratorias (FR) en la hora de mayor temperatura ambiental (1:00 pm) el que menor valor presenta es el Caqueteño (38,10°C y 39,5 rpm respectivamente), no presentó diferencias significativas con el *B. indicus* (38,4°C y 40,7 rpm respectivamente), pero si se presentó diferencias significativas con el *B. taurus* (38,7°C y 47,01 rpm respectivamente).

**Tabla 4-5:** Matriz de correlaciones de variables fisiológica, etológicas, ambientales e índices de estrés calórico.

	Psol	Psom	Rsol	Rsom	Dsol	Dsom	Beb	TS	FR	TA	HR	TBH	TGN	TBHNA	PA	PR	VV	IC	ITGNH	ITH	ICC	IHGN	ITHV	ILTT	IEV
Psol	1																								
Psom	-0,23	1																							
Rsol	-0,19	-0,25	1																						
Rsom	-0,22	0,09	-0,38	1																					
Dsol	-0,2	-0,39	0,55	-0,49	1																				
Dsom	-0,53	0,19	-0,3	0,12	-0,47	1																			
Beb	-0,16	0,1	-0,25	0,08	-0,07	0,18	1																		
TS	0,06	0,13	-0,43	0,06	-0,27	0,25	0,24	1																	
FR	-0,33	0,26	-0,27	0,23	-0,16	0,33	0,26	0,39	1																
TA	0,14	0,25	-0,6	0,19	-0,5	0,29	0,22	0,72	0,16	1															
HR	-0,2	-0,2	0,47	-0,15	0,44	-0,2	-0,12	-0,66	0,01	-0,9	1														
TBH	0,02	0,22	-0,33	0,04	-0,22	0,18	0,17	0,42	0,25	0,59	-0,46	1													
TGN	0,04	0,32	-0,57	0,27	-0,53	0,35	0,25	0,73	0,33	0,88	-0,77	0,56	1												
TBHNA	-0,02	0,2	-0,3	0,07	-0,32	0,31	0,12	0,52	0,28	0,58	-0,46	0,77	0,66	1											
PA	0,002	0,21	-0,05	-0,06	-0,02	-0,01	-0,04	0,07	0,12	0,01	-0,06	0,03	0,1	0,03	1										
PR	-0,05	0,36	-0,33	0,08	-0,25	0,18	0,23	0,43	0,38	0,47	-0,13	0,47	0,52	0,54	0,1	1									
VV	-0,05	0,15	-0,13	0,18	-0,12	0,02	0,04	0,25	0,42	0,1	-0,08	0,11	0,36	0,23	0,31	0,29	1								
IC	0,14	0,28	-0,6	0,18	-0,5	0,3	0,24	0,71	0,25	0,93	-0,75	0,61	0,87	0,65	0,02	0,64	0,16	1							
ITGNH	0,02	0,35	-0,55	0,24	-0,51	0,33	0,23	0,72	0,38	0,87	-0,69	0,62	0,96	0,69	0,08	0,63	0,35	0,89	1						
ITH	0,07	0,28	-0,49	0,12	-0,37	0,23	0,16	0,5	0,25	0,67	-0,52	0,43	0,56	0,42	-0,01	0,46	0,1	0,66	0,6	1					
ICC	0,04	0,32	-0,57	0,27	-0,54	0,35	0,25	0,73	0,32	0,89	-0,77	0,57	0,98	0,66	0,09	0,52	0,32	0,87	0,96	0,56	1				
IHGN	-0,03	0,24	-0,32	0,08	-0,33	0,31	0,15	0,54	0,32	0,6	-0,43	0,77	0,68	0,99	0,05	0,65	0,26	0,69	0,73	0,45	0,68	1			
ITHV	-0,04	0,21	-0,21	0,22	-0,22	0,09	0,08	0,34	0,44	0,23	-0,2	0,2	0,51	0,34	0,34	0,37	0,98	0,29	0,49	0,18	0,48	0,37	1		
ILTT	0,09	-0,35	0,4	-0,22	0,41	-0,3	-0,44	-0,38	-0,33	-0,56	0,37	-0,47	-0,55	-0,47	0,21	-0,52	-0,06	-0,61	-0,59	-0,48	-0,56	-0,51	-0,14	1	
IEV	-0,15	-0,28	0,53	-0,14	0,45	-0,25	-0,17	-0,59	-0,13	-0,86	0,77	-0,48	-0,69	-0,46	0,003	-0,38	-0,01	-0,78	-0,69	-0,92	-0,7	-0,48	-0,12	0,49	1

Psol= pastoreo sol; Psom= pastoreo sombra, Rsol= rumia sol, Rsom= rumia sombra, Dsol= desacano sol, Dsom= descanso sombra y Beb= Bebiendo agua, TS= temperatura superficial, FR= frecuencia respiratoria, TA= temperatura ambiental; HR= humedad relativa; TBH= temperatura de bulbo húmedo; TGN= temperatura en globo negro; TBHNA= temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado; PA= presión atmosférica, PR= punto de rocío, VV= velocidad del viento, IC = Índice de calor, ITGNH = Índice de temperatura en globo negro húmedo, ILTT= Índice Limite de trabajo térmico, ITH= Índice de temperatura humedad, ICC= Índice de carga de calor húmeda y viento, IHGN= Índice de humedad en globo negro, ITHV= Índice de temperatura humedad y viento, IEV = Índice de enfriamiento por viento.

## 4.6 Conclusiones

Las vacas doble propósito que presentaban mayoritariamente en su conformación genética *Bos taurus* fueron las más afectadas por las condiciones climáticas, lo que se evidenció al presentar mayores frecuencias respiratorias (45,5 rpm) y temperatura superficial del pelaje (38,7°C). La baja adaptación de este grupo racial disminuyó el tiempo destinado al pastoreo, bajando el consumo de alimento, lo cual se agudizó en las horas del mediodía (12:00 m.- 1:00 p.m.) donde se incrementaba la temperatura ambiental (32,1°C), Este comportamiento refleja que el estrés calórico los afectaba significativamente y para disipar el calor buscaban lugares sombreados donde descansaban, rumiaban y consumían agua, mientras que los cruces de mayor tendencia a *Bos indicus* y en especial los criollo Caqueteños fueron los más adaptados. Esta adaptación se reflejó en que presentaron menores frecuencias respiratorias (FR) (40,5°C y 39,0°C respectivamente) y temperaturas superficiales del pelaje (TS) (38,5°C y 38,0 p.m. respectivamente) y fueron los que más pastorearon en las horas de mayor temperatura ambiental.

La temperatura ambiental (TA), humedad relativa (HR) y temperatura en globo negro (TGN), son variables correlacionadas con la temperatura superficial (TS) y la frecuencia respiratoria (FR). La TGN representa un parámetro ambiental de gran impacto para determinar el estrés calórico en los bovinos. Los índices de carga de calor (ICC), temperatura en globo negro húmedo (ITGNH), índice de calor (IC), índice humedad en globo negro (IHGN), índice de temperatura humedad (ITH), índice de temperatura humedad y viento (ITHV) e índice límite de trabajo térmico (ILTT) presentaron correlaciones con las variables de respuesta frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial del pelaje (TS), los de mayor relación fueron ITGNH, ICC, IHGN.

## ANEXO 1: Evaluación de las variables ambientales en las horas del día.

Variable	7:00		8:00		9:00		10:00		11:00		12:00		1:00		2:00		3:00		4:00		5:00	
	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE
ABRIL																						
TA	25,3	0,5	27	0,9	28	0,7	29	0,6	30,9	0,5	30	0,5	31,1	1	32	0,6	33	1	32	0,7	30,6	0,5
HR	90,2	2,1	90	2,8	88	2,7	82	2,3	76,4	2,3	77	2,2	73,8	3	70	4,3	66	4,9	68	2,9	73,5	2,6
TBH	23,9	0,2	25	0,5	26	0,4	27	0,2	27,5	0,3	27	0,3	26,8	0,5	27	0,5	28	0,5	27	0,3	26,9	0,3
TGN	26,5	0,4	32	1,9	33	1,6	37	1,5	38,4	1,3	38	2	39	2	41	1,9	40	1,7	38	1,9	33,5	1
TBHNA	23,9	0,3	27	0,6	27	0,6	28	0,4	29,6	0,7	29	0,7	28,1	0,7	28	0,8	28	0,6	28	0,5	27,7	1,2
PA	28,8	0,3	29	0	29	0,5	28	0,7	28,2	0,9	29	0,1	29,1	0,1	29	0,1	29	0,1	29	0,1	28,9	0,1
PR	23,5	0,2	25	0,6	26	0,3	26	0,3	26,2	0,2	26	0,2	25,2	0,6	26	0,4	26	0,4	26	0,4	25,2	0,5
VV	0,1	0,1	0,4	0,1	0,5	0,2	0,6	0,2	0,6	0,1	1	0,1	0,8	0,2	0,8	0,2	0,7	0,2	0,8	0,2	0,4	0,1
MAYO																						
TA	25,7	0,3	26	0,6	28	0,9	29	0,9	29,8	0,8	30	0,7	31,1	0,5	32	0,7	32	0,5	32	0,6	30,8	0,5
HR	89,7	1,2	90	1,4	86	2,2	80	3,1	77,5	3,6	77	2,4	74	1,8	71	2,4	71	2,1	69	2,8	71,5	3,2
TBH	24,4	0,2	25	0,5	26	0,6	27	0,5	27,1	0,4	27	0,4	27,3	0,2	28	0,2	27	0,3	27	0,3	27	0,3
TGN	27,6	0,7	29	1,2	33	1,7	36	1,9	35,6	1,7	37	1,4	37,8	1,1	39	1,4	37	1,1	36	1,6	34	1,1
TBHNA	24,2	0,3	25	0,5	26	0,6	29	1,3	27,3	0,6	28	0,5	28,1	0,4	28	0,5	28	0,6	28	0,7	27,3	0,3
PA	28,8	0,3	28	0,5	29	0	29	0,6	28,8	0,3	29	0,1	29,1	0	29	0	29	0,3	29	0	29	0,1
PR	24,4	0,6	25	0,4	25	0,5	26	0,4	25,9	0,4	26	0,3	26	0,2	26	0,2	26	0,3	26	0,3	26	0,5
VV	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1	0,8	0,2	0,8	0,1	0,7	0,2	0,3	0,1	0,4	0,1	0,5	0,1
JUNIO																						
TA	25,4	0,3	26	0,3	28	0,4	29	0,4	30,2	0,4	32	0,8	31,4	0,8	32	0,9	32	0,5	32	0,6	31,2	0,4
HR	88,5	1	91	0,9	87	1,9	81	1,8	77	2,2	73	3,4	74,3	3,4	72	3,8	72	3,3	72	3,5	73,1	3,4
TBH	24,3	0,2	25	0,2	26	0,4	26	0,3	26,8	0,2	28	0,4	27,1	0,4	27	0,3	27	0,4	26	0,4	26,9	0,4
TGN	26,1	0,3	27	0,6	30	0,8	33	1,5	34,9	1,7	36	1,5	36,5	2	36	1,9	36	1,3	34	1,4	32,9	0,9
TBHNA	23,7	0,2	24	0,3	26	0,4	27	0,5	27	0,6	28	0,9	27,3	0,5	28	0,4	28	0,3	27	0,3	26,9	0,6
PA	29,1	0	29	0	29	0,6	29	0	29,1	0	29	0	29,1	0	29	0	28	0,6	29	0	28	0,7

PR	23,6	0,2	24	0,2	25	0,4	26	0,3	25,7	0,2	26	0,5	26	0,4	26	0,4	26	0,4	26	0,5	25,6	0,5
VV	0	0	0	0	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,6	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,4	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1

JULIO

TA	24,1	0,5	25	0,6	25	1	26	1	28	1,4	29	1,2	28,2	1,2	29	1,6	28	1,1	27	1,1	27,4	0,9
HR	89,2	2,3	88	2,5	87	4,2	85	3,8	77,4	4,8	77	4,7	77,9	4,8	78	5	80	4,2	80	4,1	81,1	3,9
TBH	23,3	0,5	23	0,3	24	0,4	24	0,3	24,5	0,7	24	0,6	24,6	0,6	25	0,6	24	0,5	24	0,5	23,7	0,4
TGN	24,9	1,1	25	1,3	28	1,9	30	2	31,3	2,2	32	2,3	31,7	2,1	30	1,8	29	1,6	29	1,3	27,1	1,1
TBHNA	22,5	0,3	23	0,4	24	1,1	24	0,6	24,4	0,6	24	0,7	24,9	0,7	24	0,7	25	0,6	24	0,5	23,4	0,5
PA	29,2	0	29	0	29	0	29	0,3	29,2	0	29	0	29,2	0	29	0	29	0	29	0	29,1	0
PR	22,3	0,2	22	0,2	23	0,6	23	0,3	23,2	0,6	23	0,5	23,4	0,6	24	0,5	23	0,4	23	0,5	23,3	0,5
VV	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	0,4	0,2	0,4	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1

AGOSTO

TA	26,8	0,5	27	0,5	29	0,7	31	0,7	31,5	0,4	32	0,5	34,6	0,8	34	0,5	34	0,8	33	0,6	33,4	0,7
HR	82,8	1,5	84	1,5	78	3,4	71	2,5	70,1	2,1	67	2,1	60,2	2,2	58	2,4	60	3,2	59	2,6	59,1	2,9
TBH	25,1	0,4	25	0,3	26	0,4	27	0,4	26,6	0,2	27	0,2	27,1	0,4	26	0,3	27	0,4	26	0,3	26,4	0,3
TGN	28,4	0,9	30	1,2	34	1,5	36	1,5	36,7	1,1	39	1,2	38,6	1,3	40	1,1	38	1,3	37	1,2	34,1	0,8
TBHNA	24,8	0,4	25	0,4	26	0,4	27	0,6	26,8	0,3	28	0,2	27,3	0,4	27	0,4	28	0,8	28	0,7	27,2	0,6
PA	28,9	0,2	29	0	29	0	29	0	29,1	0	29	0	29,1	0	29	0	29	0	29	0	29	0
PR	24,1	0,4	25	0,4	25	0,4	26	0,4	25,3	0,3	26	0,3	25,1	0,4	24	0,5	24	0,6	24	0,5	23,9	0,4
VV	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,8	0,2	0,4	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1

SEPTIEMBRE

TA	26,6	0,7	27	0,8	30	1,1	31	1,1	31,5	1	32	1	33,9	1	34	0,8	33	0,8	33	0,9	32,5	0,7
HR	82,9	2,2	85	2,2	78	3,6	76	3,1	71,7	3,9	71	3,7	67,9	3,3	65	2,8	63	2,6	65	3	66	2,4
TBH	24,3	0,4	25	0,4	26	0,5	27	0,5	26,8	0,5	27	0,6	26,9	0,6	27	0,4	27	0,4	28	0,4	27,2	0,3
TGN	26,8	0,7	28	1,1	33	1,8	36	2,2	38,2	2	37	1,9	37,7	1,7	39	1,5	37	1,5	37	1,4	34,5	0,9
TBHNA	24,3	0,4	25	0,6	27	0,7	27	0,8	27,7	0,6	27	0,6	27,4	0,5	28	0,4	28	0,9	27	0,4	27,1	0,4
PA	29,1	0	29	0,6	29	0	29	0	29,1	0	29	0	29,1	0,1	29	0,1	29	0,1	29	0,1	28,9	0
PR	23,4	0,3	24	0,4	25	0,3	26	0,4	25,3	0,4	25	0,4	25,3	0,3	26	0,3	25	0,4	26	0,4	25,3	0,3
VV	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,5	0,1	0,6	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1

TA= temperatura ambiental; HR= humedad relativa; TBH= temperatura de bulbo húmedo; TGH= temperatura en globo negro; TBHNA= temperatura en bulbo húmedo naturalmente aspirado; PA= presión atmosférica, PR= punto de rocío y VV= velocidad del viento

## ANEXO 2: Índices de estrés calórico en las horas del día.

Variable	7:00		8:00		9:00		10:00		11:00		12:00		1:00		2:00		3:00		4:00		5:00	
	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE	Prom	±EE
ABRIL																						
TA	25,3	0,5	27	0,9	28,1	0,7	29,4	0,6	30,9	0,5	30,1	0,5	31,1	1	31,5	0,6	32,9	1	32	0,7	30,6	0,5
HR	90,2	2,1	90,2	2,8	87,9	2,7	82	2,3	76,4	2,3	77,1	2,2	73,8	3	69,8	4,3	65,7	4,9	68,1	2,9	73,5	2,6
TBH	23,9	0,2	25,4	0,5	26,4	0,4	27	0,2	27,5	0,3	26,9	0,3	26,8	0,5	26,9	0,5	27,8	0,5	27,1	0,3	26,9	0,3
TGN	26,5	0,4	31,6	1,9	33	1,6	36,8	1,5	38,4	1,3	38,4	2	39	2	41	1,9	39,5	1,7	38,2	1,9	33,5	1
TBHNA	23,9	0,3	26,5	0,6	26,9	0,6	28,4	0,4	29,6	0,7	28,8	0,7	28,1	0,7	28,3	0,8	28,4	0,6	28,2	0,5	27,7	1,2
PA	28,8	0,3	29,1	0	28,7	0,5	28,4	0,7	28,2	0,9	29,1	0,1	29,1	0,1	28,8	0,1	28,8	0,1	28,8	0,1	28,9	0,1
PR	23,5	0,2	25,2	0,6	25,8	0,3	26	0,3	26,2	0,2	25,9	0,2	25,2	0,6	26,1	0,4	26,4	0,4	25,5	0,4	25,2	0,5
VV	0,1	0,1	0,4	0,1	0,5	0,2	0,6	0,2	0,6	0,1	1	0,1	0,8	0,2	0,8	0,2	0,7	0,2	0,8	0,2	0,4	0,1
MAYO																						
TA	25,7	0,3	26,3	0,6	27,9	0,9	29,4	0,9	29,8	0,8	30,2	0,7	31,1	0,5	32,1	0,7	31,7	0,5	31,6	0,6	30,8	0,5
HR	89,7	1,2	90,1	1,4	86,1	2,2	80,2	3,1	77,5	3,6	77,2	2,4	74	1,8	71,4	2,4	70,6	2,1	69,3	2,8	71,5	3,2
TBH	24,4	0,2	25,1	0,5	25,9	0,6	26,5	0,5	27,1	0,4	26,7	0,4	27,3	0,2	27,6	0,2	27	0,3	27,1	0,3	27	0,3
TGN	27,6	0,7	29	1,2	33,3	1,7	35,8	1,9	35,6	1,7	37	1,4	37,8	1,1	38,7	1,4	36,5	1,1	36,4	1,6	34	1,1
TBHNA	24,2	0,3	25,2	0,5	25,9	0,6	28,6	1,3	27,3	0,6	27,8	0,5	28,1	0,4	28,4	0,5	28,1	0,6	27,9	0,7	27,3	0,3
PA	28,8	0,3	28,4	0,5	29,1	0	28,6	0,6	28,8	0,3	29,1	0,1	29,1	0	29	0	28,6	0,3	29	0	29	0,1
PR	24,4	0,6	24,5	0,4	25,3	0,5	25,6	0,4	25,9	0,4	26	0,3	26	0,2	26,2	0,2	25,7	0,3	25,6	0,3	26	0,5
VV	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1	0,8	0,2	0,8	0,1	0,7	0,2	0,3	0,1	0,4	0,1	0,5	0,1
JUNIO																						
TA	25,4	0,3	25,6	0,3	27,6	0,4	29	0,4	30,2	0,4	31,6	0,8	31,4	0,8	31,8	0,9	31,5	0,5	31,7	0,6	31,2	0,4
HR	88,5	1	91,4	0,9	87,2	1,9	81,4	1,8	77	2,2	73,1	3,4	74,3	3,4	72,2	3,8	72,1	3,3	72	3,5	73,1	3,4
TBH	24,3	0,2	24,6	0,2	26	0,4	26,3	0,3	26,8	0,2	27,5	0,4	27,1	0,4	27,2	0,3	27	0,4	26,4	0,4	26,9	0,4
TGN	26,1	0,3	26,8	0,6	30,2	0,8	33,4	1,5	34,9	1,7	35,9	1,5	36,5	2	35,7	1,9	35,5	1,3	34,1	1,4	32,9	0,9
TBHNA	23,7	0,2	24,1	0,3	25,7	0,4	26,5	0,5	27	0,6	28,2	0,9	27,3	0,5	27,6	0,4	27,9	0,3	27,4	0,3	26,9	0,6
PA	29,1	0	29,1	0	28,6	0,6	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	28,4	0,6	29	0	28	0,7
PR	23,6	0,2	24,1	0,2	25,2	0,4	25,6	0,3	25,7	0,2	26,3	0,5	26	0,4	25,8	0,4	26	0,4	26,2	0,5	25,6	0,5



VV	0	0	0	0	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,6	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
JULIO																						
TA	24,1	0,5	24,7	0,6	25,4	1	26,4	1	28	1,4	28,9	1,2	28,2	1,2	28,6	1,6	27,5	1,1	27,3	1,1	27,4	0,9
HR	89,2	2,3	88,3	2,5	86,6	4,2	84,9	3,8	77,4	4,8	76,5	4,7	77,9	4,8	77,7	5	79,5	4,2	79,9	4,1	81,1	3,9
TBH	23,3	0,5	23	0,3	23,7	0,4	23,9	0,3	24,5	0,7	24,3	0,6	24,6	0,6	24,5	0,6	24,3	0,5	24,2	0,5	23,7	0,4
TGN	24,9	1,1	25	1,3	28	1,9	30,1	2	31,3	2,2	31,5	2,3	31,7	2,1	30,3	1,8	29,4	1,6	28,5	1,3	27,1	1,1
TBHNA	22,5	0,3	22,8	0,4	24,4	1,1	24,1	0,6	24,4	0,6	24,3	0,7	24,9	0,7	24,4	0,7	24,5	0,6	24,1	0,5	23,4	0,5
PA	29,2	0	29,2	0	29,2	0	28,9	0,3	29,2	0	29,2	0	29,2	0	29,2	0	29,2	0	29,1	0	29,1	0
PR	22,3	0,2	22,4	0,2	23,2	0,6	23,4	0,3	23,2	0,6	23,1	0,5	23,4	0,6	23,5	0,5	23,2	0,4	23,3	0,5	23,3	0,5
VV	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	0,4	0,2	0,4	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1
AGOSTO																						
TA	26,8	0,5	27,2	0,5	29,2	0,7	31	0,7	31,5	0,4	32,4	0,5	34,6	0,8	33,5	0,5	34	0,8	33,3	0,6	33,4	0,7
HR	82,8	1,5	83,9	1,5	77,5	3,4	71,3	2,5	70,1	2,1	67,3	2,1	60,2	2,2	57,7	2,4	60,2	3,2	59,1	2,6	59,1	2,9
TBH	25,1	0,4	25,3	0,3	26,2	0,4	26,7	0,4	26,6	0,2	27,1	0,2	27,1	0,4	26,4	0,3	26,5	0,4	26,4	0,3	26,4	0,3
TGN	28,4	0,9	30,1	1,2	34,4	1,5	36	1,5	36,7	1,1	38,8	1,2	38,6	1,3	40	1,1	38,3	1,3	37,2	1,2	34,1	0,8
TBHNA	24,8	0,4	25,2	0,4	26,4	0,4	27,2	0,6	26,8	0,3	28	0,2	27,3	0,4	27,4	0,4	27,8	0,8	27,5	0,7	27,2	0,6
PA	28,9	0,2	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29	0	29	0	29	0
PR	24,1	0,4	24,9	0,4	25,2	0,4	25,8	0,4	25,3	0,3	25,6	0,3	25,1	0,4	24,1	0,5	24,2	0,6	24,2	0,5	23,9	0,4
VV	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,8	0,2	0,4	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1
SEPTIEMBRE																						
TA	26,6	0,7	27,1	0,8	29,5	1,1	30,5	1,1	31,5	1	32,4	1	33,9	1	33,5	0,8	33,1	0,8	33,2	0,9	32,5	0,7
HR	82,9	2,2	84,9	2,2	77,7	3,6	75,8	3,1	71,7	3,9	70,5	3,7	67,9	3,3	65,2	2,8	63,4	2,6	64,7	3	66	2,4
TBH	24,3	0,4	24,9	0,4	26	0,5	26,7	0,5	26,8	0,5	27	0,6	26,9	0,6	27,4	0,4	27,1	0,4	27,5	0,4	27,2	0,3
TGN	26,8	0,7	28,3	1,1	33,3	1,8	36	2,2	38,2	2	36,8	1,9	37,7	1,7	38,5	1,5	37,1	1,5	36,6	1,4	34,5	0,9
TBHNA	24,3	0,4	25	0,6	26,6	0,7	27,4	0,8	27,7	0,6	27,1	0,6	27,4	0,5	27,5	0,4	27,9	0,9	27,2	0,4	27,1	0,4
PA	29,1	0	28,5	0,6	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0	29,1	0,1	28,9	0,1	29	0,1	28,9	0,1	28,9	0
PR	23,4	0,3	24,2	0,4	24,7	0,3	25,6	0,4	25,3	0,4	25,2	0,4	25,3	0,3	25,7	0,3	25,3	0,4	25,6	0,4	25,3	0,3
VV	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,5	0,1	0,6	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1

## Bibliografía.

- Aggarwal, A., & Upadhyay, R. (2013). *Heat Stress and Animal Productivity*. Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-0879-2>
- Aguilar, N. M. A., Balbuena, O., & PARANHOS DA COSTA, M. J. R. (2004). Evaluacion del temperamento em bovinos cruza cebú. *ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA. COMPORTAMENTO E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL*, 22.
- Al-Taai, O. T., & Saleh, S. M. (2017). *CALCULATING THE WIND-CHILL INDEX FOR SELECTED STATIONS IN IRAQ*.
- Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*, 49(3–4), 227–266.
- Alzina, A., Farfán-Escalante, J. C., Valencia-Heredia, E. R., & Yokoyama-Kano, J. (2001). Condición ambiental y su efecto en la temperatura rectal y frecuencia respiratoria en bovinos cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*) del estado de Yucatán, México. *Revista Biomédica*, 12(2), 112–121.
- Araúz, E. (2017). Influencia del color del pelaje sobre el comportamiento térmico corporal, cinética de la sobrecarga calórica y alteración cardiorespiratoria circadiana em vacas lecheras cruzadas (6/8 *Bos taurus* x 2/8 *Bos indicus*) bajo estrés calórico em el trópico húmedo. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(7), 1–45.
- Arias, Mader, T., & Escobar, C. P. (2012). *Climatic factors affecting cattle performance in dairy and beef farms*.
- Arias, R. A., Mader, T. L., & Escobar, P. C. (2008). Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40(1), 7–22.
- Armendano. (2018). *ESTRÉS TÉRMICO Y SÍNDROME DISTÉRMICO EN BOVINOS PARA CARNE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES*.
- Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Gomide, L. A. M., Ramos, A. L. S., Ladeira, M. M., & Ramos, E. M. (2016). Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness

- from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, 116, 118–125.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.006>
- Arroniz, J. V., Madrigal, O. J. Q., Rivera, P. D., & Córdoba, P. Z. (2012). Situación del bovino Criollo lechero tropical (CLT) en México, Nicaragua y Costa Rica. *Archivos de Zootecnia*, 61(237), 31–39.
- ASHRAE. (2017). *Handbook of Fundamentals* (9th Editio). W. Stephen Comstock.
- Badillo, A. M. (2018). *Estrés calórico en el ganado lechero (Bos taurus) de la raza Holstein*.
- Baena, M. L., & Halfter, G. (2008). Extinción de especies. *Extinción de Especies, En Capital Natural de México, Vol. I: Conocimiento Actual de La Biodiversidad. Conabio, I*, 263–282.
- Báez, F., Chávez, A., Hernández, H., & Villamediana, P. (2010). Evaluación de la capacidad de desarrollo in vitro de ovocitos bovinos provenientes de vacas con predominancia fenotípica *Bos taurus* y *Bos indicus*. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 20(3), 259–267.
- Barrera, G., Martínez, R., & Pérez, JE; Polanco, N y Ariza, F. (2006). Evaluación de la variabilidad genética en ganado Criollo Colombiano mediante 12 marcadores microsatélites. *Animal Genetic Resources Information*, 38, 35–45.  
<https://doi.org/10.1017/S1014233900002030>
- Betancourt, K., Ibrahim, M., Harvey, C., & Vargas, B. (2003). Efecto de la cobertura arbórea sobre el comportamiento animal en fincas ganaderas de doble propósito en Matiguás, Matagalpa, Nicaragua. *Agroforestería En Las Américas*, 10(39–40), 47–51.
- Brake, D. J., & Bates, G. P. (2002). Limiting metabolic rate (thermal work limit) as an index of thermal stress. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 17(3), 176–186.
- Brown-Brandl, T. M., Nienaber, J. A., Eigenberg, R. A., Mader, T. L., Morrow, J. L., & Dailey, J. W. (2006). Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. *Livestock Science*, 105(1–3), 19–26.
- Cardoso, C. C., Lima, F. G., Fioravanti, M. C. S., Egito, A. A. do, Tanure, C. B., Peripolli, V., & McManus, C. (2016). Heat tolerance in Curraleiro Pe-Duro, Pantaneiro and Nelore cattle using thermographic images. *Animals*, 6(2), 9.
- 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.
- Carvajal, T., Lamela, L., & Cuesta, A. (2012). Evaluación de las arbóreas *Sambucus nigra* y *Acacia decurrens* como suplemento para vacas lecheras en la Sabana de Bogotá, Colombia. *Pastos y Forrajes*, 35(4), 417–430.
- Cavallotti, B. A. (2014). Ganadería bovina de carne y leche. Problemática y alternativas. (Spanish). *Cattle for Meat and Milk: Problems and Alternatives. (English)*, 30(188), 95–101.
- Celis Parra, G. A., Chinguad Taramuel, L. G., & Garcia Bustos, J. J. (2020). Evaluation of the productive characteristics of the Caqueteño Creole cattle breed. *Tropical Animal Health and Production*, 52(6), 3241–3250. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02350-2>
- Celmira, S., Laura, A., Elize, V. L., Oscar, B., Saravia, C., & Astigarraga, L. (2011). Impacto de las olas de calor en vacas lecheras en Salto (Uruguay). *Agrociencia Uruguay*, 15(1), 93–102.
- CEPAL, FAO, & IICA. (2017). *Perspectivas de la agricultura y el desarrollo rural en las Américas y el Caribe: Una mirada hacia América Latina y el Caribe 2017-2018*.
- Cerqueira, J., Araújo, J. P., Blanco, I., Cantalapiedra, J., Silvestre, M. A., & Silva, S. R. (2016). Predicción de estrés térmico en vacas lecheras mediante indicadores ambientales y fisiológicos. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 357–364.
- Chan, A. P. C., Yi, W., Chan, D. W. M., & Wong, D. P. (2013). Using the thermal work limit as an environmental determinant of heat stress for construction workers. *Journal of Management in Engineering*, 29(4), 414–423.
- Conrad, J. H. (1985). *Feeding of farm animals in hot and cold environments*.
- Cony, P., Casagrande, G., & Vergara, G. (2004). Cuantificación de un índice de estrés calórico para vacas lecheras en Anguil, provincia de La Pampa (Argentina). *Rev. Fac. Agronomía-UNLPam*, 15(1/2), 9–15.
- Cortés, H., Aguilar, C., & Vera, R. (2003). Sistemas bovinos doble propósito en el trópico bajo de Colombia. Modelo de simulación. *Archivos de Zootecnia*, 52(197), 25–34.
- da Silva, A. (2014). El plan de acción mundial de la FAO sobre los recursos zoogenéticos y

- su aplicación en Latinoamérica y el Caribe. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(1).
- Da Silva, R. G. (2006). Weather and climate and animal production. *Update of the Guide to Agricultural Meteorological Practices*, 563–567.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2018). *InfoStat versión 2018*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Echeverri Echeverri, D. M., Galeano-Vasco, L. F., Ramírez Arias, J. P., Cerón-Muñoz, M. F., & Márquez Girón, S. M. (2018). Efecto de la temperatura ambiente en la temperatura superficial de zonas negras y blancas del pelaje de un hato de vacas holstein en el departamento de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(36), 97–107.
- Eibl-Eibesfeldt, I. (1979). *Etología: introducción al estudio comparado del comportamiento* (Issue 591.5 EIB).
- Enríquez Regalado, A. V., & Álvarez Adán, A. (2020). Caracterización del índice de temperatura y humedad y el estrés calórico en el ganado bovino de leche en dos lecherías en la provincia Mayabeque, Cuba. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 54(1), 11–18.
- Eslava, J. A. (1993). Climatología y diversidad climática de Colombia. *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 18(71), 507–538.
- Espinoza, J. L., Sanchez, J., Gracia, J. A., Sanchez, J. R., Ortega, R., & Palacios, A. (2009). Thermoregulation differs in Chinampo (*Bos taurus*) and locally born dairy cattle. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(3), 175–180.
- Espinoza, J., Ortega, R., Palacios, A., & Guillén, A. (2011). Tolerancia al calor y humedad atmosférica de diferentes grupos raciales de ganado bovino. *Revista MVZ Córdoba*.
- Estrada, C. A., & Rosas, G. (2007). Proyecto: Centro de Investigaciones Amazónicas Macagual (CIMAZ). *Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados. Universidad de La Amazonia*. 35p.
- FAO. (2009). Alimentos Sanos y Seguros. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 4(2), 18.
- Faure, R., Fernández-Limia, O., & Morales-Denis, C. (2004). Concentraciones de Cortisol sérico en novillas Holstein durante las dos épocas del año en Cuba. *REDvET*, 12, 12.

- FONADE, F. financiero de proyectos de desarrollo, & IDEAM, I. de hidrología meteorología y estudios ambientales. (2013). Efectos del cambio climático en la producción y rendimiento de cultivos por sector. *Cambios Climáticos*, 0–49.
- Gallardo, M. R., Valtorta, S. E., Leva, P. E., Gaggiotti, M. C., Conti, G. a, & Gregoret, R. F. (2008). Interacciones de dieta y refrigeración sobre respuestas fisiológicas y producción y composición de la leche de vacas lecheras en pastoreo. *28 Congreso Argentino de Producción Animal, Dc*, 1–6.
- García, F., Pezo, D., Casanoves, F., Ibrahim, M., & Skarpe, C. (2013). Estrés calórico en ganado de doble propósito bajo pastoreo, en función del nivel de cobertura arbórea en potreros. *Agroforestería En Las Américas*, 50.
- Gaughan, J. B., Mader, T. L., Holt, S. M., & Lisle, A. (2008). A new heat load index for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 86(1), 226–234.
- Gibson, J. P., & Hanotte, W. A. Y. O. (2008). Medidas de diversidad como insumo para decisiones acerca de la conservación de los recursos genéticos pecuarios. *Manejo de La Biodiversidad En Los Ecosistemas Agrícolas*.
- Gomes, R. C. C., Yanagi Junior, T., Lima, R. R. de, Yanagi, S. de N. M., Carvalho, V. F. de, & Damasceno, F. A. (2011). Predição do índice de temperatura do globo negro e umidade e do impacto das variações climáticas em galpões avícolas climatizados. *Ciência Rural*, 41(9), 1645–1651.
- Grier, J. W., & Burk, T. (1992). *Biology of animal behavior*.
- Gumucio, T., Mora Benard, M. A., Twyman, J., & Ceballos, H. (2016). *Género en la ganadería: Consideraciones iniciales para la incorporación de una perspectiva de género en la investigación de la ganadería en Colombia y Costa Rica*.
- Habeeb, A. A. (1992). Heat stress. *Farm Animals and the Environment*.
- Hahn, G. L., Mader, T. L., & Eigenberg, R. A. (2003). Perspective on development of thermal indices for animal studies and management. *EAAP Technic Ser*, 7, 31–44.
- Hemsworth, P. H., Barnett, J. L., Beveridge, L., & Matthews, L. R. (1995). The welfare of extensively managed dairy cattle: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 42(3), 161–182.
- Hetem, R. S., Maloney, S. K., Fuller, A., Meyer, L. C. R., & Mitchell, D. (2007). Validation of

- a biotelemetric technique, using ambulatory miniature black globe thermometers, to quantify thermoregulatory behaviour in ungulates. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 307(6), 342–356.
- Huertas, L. (2008). El control ambiental en invernaderos: humedad relativa. *Hortícola*, 205, 52–54.
- Intergubernamental, G., & Clim, C. (2007). Cambio climático 2007. In *Director*.
- Jose, S., Gillespie, A. R., & Pallardy, S. G. (2004). Interspecific interactions in temperate agroforestry. *Agroforestry Systems*, 61(1), 237–255.
- Kim, H., Ha, J.-S., & Park, J. (2006). High temperature, heat index, and mortality in 6 major cities in South Korea. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 61(6), 265–270.
- Llamas, P. L. (2009). Eficiencia energética y medio ambiente. *Información Comercial Española, ICE: Revista de Economía*, 75–92. <https://doi.org/10.2172/1011644>
- López, G., Brizuela, A., Rondán, G., Lissaso, C., Kemerer, A., & de los Santos, M. (2016). Determinación del índice de temperatura y humedad (ITH) para vacas lecheras, en el Departamento Nogoyá, entre ríos. *Revista Científica Agropecuaria*, 20(1–2), 57–65.
- Magaña, J. G., Segura, J. C., Aké, J. R., Montes, R. C., & Estrada, R. J. (2019). Importancia de los Recursos Genéticos Animales para la Eficiencia de los Sistemas de Producción Bovina en el Trópico Mexicano. In *AGROECOSISTEMAS TROPICALES: CONSERVACIÓN DE RECURSOS NATURALES Y SEGURIDAD ALIMENTARIA* (Primera ed, p. 533). México: Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Chiná–Instituto Tecnológico de la Zona Maya.
- Mejía, Magaña, J., Segura, J., Delgado, R., & Estrada, R. (2010). Comportamiento reproductivo y productivo de vacas *Bos indicus*, *Bos taurus* y sus cruces en un sistema de producción vaca: cría en Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(2).
- Mejía, O. F. (2014). *Regulación de la temperatura con acupuntura: artículo de revisión*. Universidad Nacional de Colombia.
- Molina-Coto, R. (2017). El estrés calórico afecta el comportamiento reproductivo y el desarrollo embrionario temprano en bovinos. *Nutrición Animal Tropical*, 11(1), 1–15.

- Molina Benavides, R. A., Silva Aguilar, F., Perilla Duque, S., & Sánchez Guerrero, H. (2016). Caracterización del ambiente térmico para la actividad ganadera bovina en el Valle del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica*, 65(4).
- Moran, D. S., Pandolf, K. B., Shapiro, Y., Heled, Y., Shani, Y., Mathew, W. T., & Gonzalez, R. R. (2001). An environmental stress index (ESI) as a substitute for the wet bulb globe temperature (WBGT). *Journal of Thermal Biology*, 26(4–5), 427–431.
- Murgueitio, R. E. (2000). *Sistemas agroforestales para la producción ganadera en Colombia*.
- Nasca, J. a, Toranzos, M., & Banegas, N. R. (2006). Evaluación de la sostenibilidad de dos modelos ganaderos de la llanura deprimida salina de Tucumán, Argentina. *Zootecnia Trop*, 24(2), 121–136.
- Nascimento, C. S. do, Machado, M. A., Martinez, M. L., Silva, M. V. G., Guimarães, M. F. M., Campos, A. L., Azevedo, A. L. S., Teodoro, R. L., Verneque, R. da S., & Guimarães, S. E. F. (2006). Association of the bovine major histocompatibility complex (BoLA) BoLA-DRB3 gene with fat and protein production and somatic cell score in Brazilian Gyr dairy cattle (*Bos indicus*). *Genetics and Molecular Biology*, 29(4), 641–647.
- Núñez, R., Ramírez, R., Saavedra, L. A., & García, J. G. (2016). La adaptabilidad de los recursos zoogenéticos Criollos, base para enfrentar los desafíos de la producción animal. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 461–468.
- Olivares, B. O. (2014). Aplicación del índice de confort térmico como estimador del estrés calórico en la producción pecuaria de la Mesa de Guanipa, estado Anzoátegui. *Zootecnia Tropical*, 31(3).
- Olivera Atenssia, F., & Lezcano Bollini, L. (2019). *Evaluación del uso de sensores subcutáneos para determinar las variaciones de temperatura corporal de los bovinos*.
- Ortiz, N., Digonzelli, P., García, M., Arce, O., & Romero, E. (2015). Modelación estadística de la emergencia de tallos de caña de azúcar. *Revista Agronómica Del Noroeste Argentino*, 35(2), 73–80.
- Paranhos da Costa, M. J. R., Costa e Silva, E. V, Chiquitelli Neto, M., & Rosa, M. S. (2002). Contribuição dos estudos de comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. *Encontro Anual de Etologia*, 20(2002), 71–89.
- Pardo, M. (2012). El impacto social del Cambio Climático. *Panorama Social*, 5(2007), 22–



35.

- Patel, T., Mullen, S. P., & Santee, W. R. (2013). Comparison of methods for estimating wet-bulb globe temperature index from standard meteorological measurements. *Military Medicine*, 178(8), 926–933.
- Pérez, E., Soca, M., Díaz, L., & Corzo, M. (2008). Comportamiento etológico de bovinos en sistemas silvopastoriles en Chiapas, México. *Pastos y Forrajes*, 31(2), 1.
- Petryna, A., & Bavera, G. (2002). Etología. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 1–15.
- Pinzón, & Mejía, L. (2017). *Indicadores conductuales y signos de sensibilidad usados para evaluar el bienestar animal durante el sacrificio de bovinos artículo de revision.*
- Quijano, L., Artunduaga, J., & López, R. (2015). Evaluación de dos protocolos de inseminación artificial a término fijo (IATF) con dos inductores de ovulación (benzoato de estradiol y cipionato de estradiol) en vacas raza criollo caqueteño en el departamento del Caquetá. *Revista Electronica de Veterinaria*, 16(9).
- Rashamol, V. P., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Archana, P. R., Bhatta, R., Rashamol, V. P., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Archana, P. R., & Bhatta, R. (2018). Physiological adaptability of livestock to heat stress: an updated review. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 6(3), 62–71. <https://doi.org/10.31893/2318-1265jabb.v6n3p62-71>
- Ríos, V., Ortiz, N., Valencia, A., & Orjuela, J. (2013). Estrés calórico y su relación con variables reproductivas en machos bovinos en la Amazonia Colombiana-Heat stress. *Revista Electronica de Veterinaria*, 14(4), 1–12. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63626164008.pdf>
- Rojas, H., Stuardo, L., & Benavides, D. (2005). Políticas y prácticas de bienestar animal en los países de América: estudio preliminar. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 24(2), 549–565.
- Romero, M., Córdova, G., & Hernández, E. (2009). Producción de Forraje Verde Hidropónico y su Aceptación en Ganado Lechero. *Acta Universitaria*, 19(2), 11–19.
- Rouse, J. E. (1977). *The criollo: Spanish cattle in the Americas*. University of Oklahoma Press.
- Russi, L. dos S., Simão da Rosa, M., Barbalho, P. C., & Zúccari, C. E. S. N. (2011). Etologia

- aplicada em bovinos. *Revista de Etologia*, 10(1), 45–53.
- Santellano-Estrada, E., Becerril-Pérez, C. M., Mei-Chang, Y., Gianola, D., Torres-Hernández, G., Ramírez-Valverde, R., Domínguez-Vivieros, J., & Rosendo-Ponce, A. (2011). Caracterización de la lactancia y evaluación genética del ganado Criollo Lechero Tropical utilizando un modelo de regresión aleatoria. *Agrociencia*, 45(2), 165–175.
- Santos, S. A., McManus, C., Soriano, B. M. A., Silva, R., Comastri Filho, J. A., Abreu, U. G. P., & Garcia, J. B. (2005). Variações da temperatura corporal e da pele de vacas e bezerros das raças pantaneira e nelore no pantanal. *Archivos de Zootecnia*, 54(206–207), 237–244.
- Schüller, L. K., Burfeind, O., & Heuwieser, W. (2013). Comparison of ambient temperature, relative humidity, and temperature-humidity index between on-farm measurements and official meteorological data. *Journal of Dairy Science*, 96(12), 7731–7738.
- Segura, J. C., & Montes, R. C. (2001). Razones y estrategias para la conservación de los recursos genéticos animales. *Revista Biomédica*, 12(3), 196–206.
- Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, 67(1–2), 1–18.
- Souza, B. B. (2010). Índice de conforto térmico para ovinos e caprinos: índice de temperatura do globo negro e umidade registrado em pesquisas no Brasil. *Farmpoint-Ovinos e Caprinos*.
- Steadman, R. G. (1979). The assessment of sultriness. Part I: A temperature-humidity index based on human physiology and clothing science. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 18(7), 861–873.
- Suárez, E., Reza, S., Díaz, E., García, F., Pastrana, I., Cuadrado, H., & Espinosa, M. (2012). Efectos de las condiciones ambientales sobre el comportamiento ingestivo en bovinos de carne en un sistema intensivo en el Valle del Sinú. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2).
- Suárez Salazar, J. C., Duran Bautista, E. H., & Rosas Patiño, G. (2015). Macrofauna edáfica asociada con sistemas agroforestales en la Amazonía Colombiana. *Acta Agronómica*, 64(3).
- Ulrich, C., Vera, R. R., & Weniger, J. H. (1994). *Producción de leche con vacas de doble*

*propósito en pasturas solas y asociadas con leguminosas.*

- Uribe G, Claudia, et. al. (2016). Plan Estratégico de Ciencia, Tecnología e Innovación del Sector Agropecuario Colombiano (2017-2027). *Publicación Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación Colciencias*, 161.
- Valbuena, O., Rodríguez, P., & Suárez, J. (2017). CALIDAD DE SUELOS BAJO DOS ESQUEMAS DE MANEJO EN FINCAS CAFETERAS DEL SUR DE COLOMBIA1. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1).
- Valdés, J., Oca, R., Balmaseda, R., & de Armas, R. (2006). Análisis del comportamiento estacional y tendencia de las categorías reproductivas y los nacimientos en empresas pecuarias lecheras. *Revista de Producción Animal*, 18(2), 149–155.
- Varón, L. (2011). Las dietas en las emisiones de metano durante el proceso de rumia en sistemas de producción bovina. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 2(1), 55–64.
- Velazco, J., & Rovira, P. (2012). Efecto del tipo de sombra en la ganancia de peso, tasa respiratoria y conducta de novillos sobre sudangras. *Editor: Pablo Rovira*.
- Vergara, O., Botero, L., & Martínez, C. (2009). Factores ambientales que afectan la edad al primer parto y primer intervalo de partos en vacas del sistema doble propósito. *Revista MVZ Córdoba*.
- Vilches, A., & Pérez, D. G. (2011). El Antropoceno como oportunidad para reorientar el comportamiento humano y construir un futuro sostenible. *Revista Electrónica de Enseñanza de Las Ciencias*, 10(3).
- Villalobos, L., & Sánchez, J. M. (2010). Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. II. Valor nutricional. *Agronomía Costarricense*, 34(1), 43–52.
- WingChing, R., & Mora, E. (2015). Condiciones ambientales y calidad de la leche cruda de un ható Jersey especializado en el trópico húmedo de Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED*, 7(2), 165–171.
- Zahid, M., & Rasul, G. (2010). Rise in summer heat index over Pakistan. *Pakistan Journal of Meteorology*, 6(12), 85–96.
- Zimbelman, R. B., Rhoads, R. P., Rhoads, M. L., Duff, G. C., Baumgard, L. H., & Collier, R.

J. (2009). A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. *Proceedings of the Southwest Nutrition Conference (Ed. RJ Collier)*, 158–169.