



## **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y  
DE LA SALUD ANIMAL**

**“ESTABLECIMIENTO DE UN PANEL DE MARCADORES  
MOLECULARES PREDICTORES DE LA CALIDAD  
ORGANOLÉPTICA DE LA CARNE DE RES MEXICANA”**

### **TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**PRESENTA**

**SELENE ALFARO ZAVALA**

**TUTORA PRINCIPAL**

**DRA. MARÍA DE LA SALUD RUBIO LOZANO.**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM**

**COMITÉ TUTORAL**

**DR. RUBÉN DANILO MÉNDEZ MEDINA.**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM**

**DR. MANUEL PARRA BRACAMONTE.**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD  
ANIMAL**

MEXICO, DF.

OCTUBRE 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo no se habría podido realizar sin la colaboración de muchas personas que me han brindado su ayuda, sus conocimientos y apoyo.

Primeramente, quiero agradecer al Programa de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional.

Debo agradecer de manera especial a la Dra. María de la Salud Rubio Lozano por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntas. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis.

Quiero expresar también mi más profundo agradecimiento al Dr. Mauel Parra Bracamonte por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis. Debo destacar, por encima de todo, su disponibilidad y paciencia que hizo que nuestras pláticas redundaran benéficamente tanto a nivel científico como personal.

Un agradecimiento singular me merece el Dr. Rubén Danilo Méndez Medina quién me ayudó y orientó durante todo el proyecto. Gracias por todos sus comentarios, los cuales siempre fueron oportunos y de gran relevancia.

Agradezco a los miembros del jurado: Dr. José Manuel Berruecos, Dra. Ana María Sifuentes, Dr. Enrique Delgado y Dra. Adriana Llorente por su aportación invaluable que ha enriquecido notablemente el trabajo realizado.

Gracias a mi amiga Pamela por ser la mejor compañera y cómplice de esta aventura.

A todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

## **DEDICATORIA**

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado.

Esta tesis se la dedico a mis padres quienes me han apoyado incondicionalmente en cada aspecto de mi vida. Gracias por todo su amor.

A mi esposo Gabriel por siempre motivarme para continuar con mis estudios y ser un compañero maravilloso.

A mis hermosos hijos Sebastián y Santiago, quienes llenan de alegría cada día de mi vida, además de darme las fuerzas para nunca rendirme.

A mis hermanos Lucy, Omar y Josef por crecer conmigo y estar siempre en los momentos de felicidad y tristeza.

A mi Emilia, por esa ternura y chispa que me hacen ser la tía más afortunada del mundo.

A Isabel y Estela por ser ese complemento perfecto de mi familia.

A todos ustedes, los amo!!!

## INDICE

<b>LISTA DE CUADROS .....</b>	<b>I</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>III</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>V</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
2.1 La ganadería bovina.....	3
2.1.1 La ganadería bovina productora de carne en México .....	3
2.2 Calidad de la carne.....	4
2.2.1 Calidad de la carne mexicana .....	6
2.3 Mejoramiento genético.....	8
2.3.1 Mejoramiento genético en el ganado bovino de carne.....	8
2.3.2 El mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares.....	10
2.4 Tipos de marcadores moleculares .....	13
2.5 Marcadores moleculares asociados con la calidad de la carne .....	14
2.5.1 Calpaína 1 ( <i>CAPN1</i> ) .....	15
2.5.2 Calpastatina ( <i>CAST</i> ) .....	17
2.5.3 Tiroglobulina ( <i>TG</i> ).....	19
2.5.4 Leptina ( <i>Lep</i> ) .....	20
2.5.5 Hormona de Crecimiento ( <i>GH</i> ).....	22
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>25</b>
<b>4. OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>25</b>
4.1 Objetivos específicos .....	26
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>27</b>
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
6.1 Análisis en rastro.....	28
6.1.1 Medición del marmoleo.....	28
6.1.2 Medición del área del ojo de la chuleta.....	29
6.2 Análisis en el laboratorio.....	29

6.2.1 Medición de la Fuerza de Corte .....	29
6.3 Extracción de ADN .....	29
6.4 Análisis de los polimorfismos.....	30
6.4.1 Marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 .....	30
6.4.2 Identificación de los marcadores TG5, GH/ <i>AluI</i> y Lep por PCR-RFLP .....	32
6.5 Análisis estadísticos .....	37
6.5.1 Cálculo de frecuencias genotípicas y alélicas .....	37
6.5.2 Análisis de asociación.....	37
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
7.1 Frecuencias genotípicas y alélicas de CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1.....	39
7.1.2 Análisis de correspondencia .....	44
7.1.3 Frecuencias genotípicas y alélicas de los marcadores TG5, LEP y <i>GH/AluI</i> .....	45
7.2 Efecto del grupo racial sobre la Fuerza de Corte .....	50
7.3 Efecto del grupo racial sobre el Marmoleo .....	54
7.4 Efecto del marcador <i>GH/AluI</i> sobre el área de chuleta .....	57
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>
<b>A N E X O I.....</b>	<b>71</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Principales compañías que comercializan pruebas para la identificación de variantes alélicas asociadas a características productivas .....	12
<b>Cuadro 2.</b> Escala del marmoleo .....	28
<b>Cuadro 3.</b> Secuencias de iniciadores y sondas para los marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 .....	31
<b>Cuadro 4.</b> Secuencias de iniciadores para los marcadores TG5, GH/A/ul y Lep .....	33
<b>Cuadro 5.</b> Condiciones de PCR-RFLP para la identificación del marcador TG5.....	33
<b>Cuadro 6.</b> Condiciones de PCR-RFLP para la amplificación del marcador GH/A/ul....	34
<b>Cuadro 7.</b> Condiciones de PCR-RFLP para la amplificación del marcador LEP .....	34
<b>Cuadro 8.</b> Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAPN1 316 de acuerdo con el grupo racial .....	39
<b>Cuadro 9.</b> Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAPN1 4751 de acuerdo con el grupo racial .....	41
<b>Cuadro 10.</b> Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAST T1 de acuerdo con el grupo racial.....	43
<b>Cuadro 11.</b> Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador TG5 de acuerdo con el grupo racial .....	46
<b>Cuadro 12.</b> Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador Lep de acuerdo con el grupo racial .....	47

<b>Cuadro 13.</b> Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador GH/Alu de acuerdo con el grupo racial.....	49
<b>Cuadro 14.</b> Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la variable Fuerza de Corte (kg/cm <sup>2</sup> ) de los marcadores genéticos CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 ..	53
<b>Cuadro 15.</b> Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la variable marmoleo de acuerdo con el grupo racial .....	55
<b>Cuadro 16.</b> Medias de mínimos cuadrados y error estándar de los marcadores TG5, LEP y GH/Alu asociados al marmoleo.....	56
<b>Cuadro 17.</b> Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la medición del área de chuleta de acuerdo al grupo racial .....	58
<b>Cuadro 18.</b> Efecto del marcador GH/Alu sobre el área de chuleta (cm <sup>2</sup> ) .....	58



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación genómica de los marcadores CAPN1 316 y CAPN1 4751 en el gen CAPN1 .....	17
<b>Figura 2.</b> Estructura del gen Leptina .....	21
<b>Figura 3.</b> Estructura del gen GH .....	23
<b>Figura 4.</b> Curvas de fluorescencia .....	32
<b>Figura 5.</b> Imagen de los fragmentos digeridos de TG5 con la enzima de restricción <i>Mbol</i> .....	35
<b>Figura 6.</b> Imagen de los fragmentos digeridos de GH con la enzima de restricción <i>AluI</i> .....	36
<b>Figura 7.</b> Imagen de los fragmentos digeridos de LEP con la enzima de restricción <i>PstI</i> .....	36
<b>Figura 8.</b> Análisis de correspondencia de los marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 de acuerdo con el grupo racial .....	44
<b>Figura 9.</b> Análisis de comparación de medias de mínimos cuadrados de acuerdo con el grupo racial sobre la Fuerza de Corte ( $\text{kg/cm}^2$ ).....	51

## RESUMEN

El incremento en la calidad de carne ha sido el resultado de la mejora genética y el empleo de marcadores moleculares para la selección de animales con variantes alélicas favorables como la suavidad y el marmoleo. La suavidad está asociada con marcadores SNP en los genes CAPN1 (calpaína) y CAST (calpastatina) y el marmoleo a los genes LEP (leptina) y TG5 (tiroglobulina), que promueven la deposición de grasa. El gen GH (hormona de crecimiento) se asocia al aumento del contenido de músculo en canal y es un parámetro productivo. El objetivo de este estudio fue estimar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos CAPN1 316, CAPN1 4751, CAST T1, LEP, TG5 y GH<sub>alul</sub> y evaluar su asociación con características de calidad de la carne bovina en México. Se evaluaron 196 muestras del músculo *Longissimus dorsi* provenientes del norte, centro y sur del país, clasificadas como *Bos taurus*, *Bos taurus/Bos indicus* y *Bos indicus*, a las que se les estimó el marmoleo y fuerza de corte (FC). De los marcadores asociados a suavidad de la carne, se encontró un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) en CAPN 316 y CAPN1 4751. El grupo racial *Bos taurus* presentó menores valores de FC ( $P < 0.05$ ). El marcador CAST T1 no tuvo efecto sobre la suavidad de la carne. En lo que se refiere al marmoleo, a medida que se incrementó el grado de inclusión *Bos indicus* los valores disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ); sin embargo, no se observó efecto de los marcadores TG5 y LEP sobre esta característica. No existió asociación entre el marcador GH y el área del ojo de la chuleta. Se considera a los marcadores CAPN1 316 y CAPN1 4751 como una herramienta eficaz en la identificación y selección de los animales portadores de alelos que mejoren la suavidad de la carne, lo que podría conducir a un aumento en el valor comercial de la carne bovina producida en México.

**Palabras clave:** Razas polimorfismos, genes, calidad organoléptica.

## **ABSTRACT**

The increase in the quality of meat is the result of breeding and the use of molecular markers for the selection of animals with favorable allelic variants, like tenderness and marbling. The tenderness is associated with SNP markers in genes CAPN1 (calpain) and CAST (calpastatin) and marbling to genes LEP (Leptin) and TG5 (thyroglobulin), which promote the deposition of fat. The gene GH (growth hormone) is associated with increase muscle content. The aim of this study was to determine the genotype and allele frequencies in Mexican bovine meat and the effect of single nucleotide polymorphisms (SNP) in CAPN1 316, CAPN1 4751, CAST T1, LEP, TG5 y GH<sup>lul</sup> on the quality characteristics of beef. Samples of *Longissimus dorsi* were collected in slaughterhouses from northern, center and southern Mexico, classified as *Bos taurus*, *Bos taurus/Bos indicus* & *Bos indicus* and subjected to Warner Bratzler shear force (WBSF) and marbling as described by USDA. The markers CAPN1 316 and CAPN1 4751 showed a significance effects for tenderness. *Bos taurus* racial group had lower values of WBSF. In regard to marbling, *Bos taurus* racial group showed higher values of this characteristic in quality, compared to the other groups tested ( $P < 0.05$ ); however, no effect was observed ( $P > 0.05$ ) and TG5 markers LEP on this feature. No significant association between the marker GH and the rib eye area of. CAPN1 316 and CAPN1 4751 is considered as an effective tool in the identification and selection of animals carrying alleles that improve the tenderness of meat in conjunction with breeding programs, which could lead to an increase in the commercial value of beef produced in Mexico.

**Key words:** polymorphisms, genes, organoleptic quality.

## 1. INTRODUCCIÓN

La ganadería bovina es una de las principales actividades agropecuarias, relevante por ser una fuente importante de alimentos, materias primas y empleos, contribuyendo con el 30.5% del total de la carne producida en México (INEGI, 2011).

La producción de carne bovina ha experimentado un crecimiento que genera 1.82 millones de toneladas de carne en canal y exporta en promedio 1.54 millones de cabezas de becerros en pie (FAS/USDA, 2012), mientras que el consumo de carne se encuentra cerca de los 2 millones de toneladas (SAGARPA, 2012), lo que provoca que la industria cárnica no sea autosuficiente, situación que ha llevado a la importación de productos y subproductos cárnicos para satisfacer y sostener la demanda nacional. Aunado a lo anterior, factores como el incremento en los costos de producción, las fluctuaciones en el precio de la carne de res, respecto a otras fuentes de proteína (cerdo y ave), dificultan el comercio de este producto entre los diferentes sectores de la población.

En países desarrollados, el aumento en la producción y en la calidad de la carne ha sido consecuencia del mejoramiento genético en el ganado, el cual se ha enfocado en la selección de características cuantitativas, las cuales por lo general son controladas por más de un gen (Dekkers, 2002).

En la actualidad el empleo de las evaluaciones genéticas en conjunto con pruebas de comportamiento ha ampliado el esquema de comercialización para la ganadería. Más recientemente, se ha propuesto el uso de los marcadores genéticos como un apoyo en la toma de decisiones para el diseño de estrategias de selección de los mejores ejemplares poseedores de las características que el mercado demanda para así poderlos reproducir de manera intensiva y de esta forma contribuir en el incremento de la productividad y la eficiencia de los hatos ganaderos (Van Eenenaam, 2007).

La aplicación de esta estrategia conocida como Selección Asistida por Marcadores (MAS, del inglés "Marker Assisted Selection") depende de los objetivos de selección y se espera un mayor impacto en aquellas características que son difíciles y/o costosas de cuantificar, entre las que se encuentran las características de calidad de la carne como la suavidad y el marmoleo, las cuales son de carácter poligénico (Dekkers, 2002). Entre los genes asociados a estas características destacan el gen Calpaína (CAPN1), Calpastatina (CAST) y el gen Tiroglobulina (TG) (Casas, 2006; Barendse *et al.*, 2004); en los que se

han identificado marcadores moleculares, cuyo efecto se ha validado en diferentes poblaciones de bovinos (Van Eenennaam *et al.*, 2007). Otro gen relacionado con la calidad de la carne es el gen Leptina (LEP) involucrado en el metabolismo lipídico, influyendo en la deposición de grasa intramuscular y por lo tanto, asociado a variaciones en el marmoleo (Buchanan *et al.*, 2002). El gen de la Hormona de Crecimiento bovina (bGH) se encuentra relacionado con características reproductivas y productivas entre las que se encuentran producción lechera y desarrollo testicular, contenido de grasa en la canal y músculo, entre otros (Unannian *et al.*, 2002). Debido a sus características, estos marcadores son candidatos idóneos para su evaluación en las poblaciones de bovino y con esto, determinar su posible aplicación en las estrategias de mejoramiento genético en el ganado especializado en la producción de carne en México.

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la asociación del polimorfismo de los genes CAPN1, CAST, TG, LEP y GH con características de calidad organoléptica de la carne bovina en México.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 La ganadería bovina**

La ganadería bovina destinada a la producción de carne es una actividad de notable importancia socioeconómica en el mundo, ya que es una fuente de alimento que genera incentivos económicos como divisas y empleos. Actualmente, los principales países productores de carne bovina son Estados Unidos (21% de la producción mundial), Brasil, China y la India. México ocupa el séptimo lugar en esa actividad con un 3% (FAS/USDA, 2011).

En el contexto mundial dos componentes importantes en la comercialización de productos cárnicos son las importaciones y exportaciones, que son indicadores de autosuficiencia. En este sentido, los países con mayor producción son por ende los principales exportadores. En contraste, algunos países no logran cubrir las demandas de consumo de sus poblaciones, lo que induce a la mayor importación de productos y subproductos cárnicos. México muestra una tendencia de crecimiento en importaciones de carne bovina en un 34.9 % anual, ubicándolo en el contexto mundial como uno de los principales países importadores (FAS/USDA, 2011).

#### **2.1.1 La ganadería bovina productora de carne en México**

En México, la ganadería bovina para carne es una de las principales actividades productivas diseminadas en el área rural y utiliza el 53.7% de los 200 millones de hectáreas del territorio nacional (Osuna, 2002). Se desarrolla en diferentes zonas agroecológicas que determinan sus principales productos y su comercialización.

Básicamente, los sistemas de producción intensiva o extensiva de las principales razas de bovinas cárnicas, se dirigen hacia el engorde de ganado en corrales o en pastoreo y a la venta de animales jóvenes en pie, cuyo destino final es la exportación (Canizal y Rivera, 2007).

La exportación de animales en pie, es una actividad que incrementa el rubro económico de la ganadería bovina, siendo EU el principal destino (FAS/USDA, 2011). Por otro lado, las importaciones en la ganadería bovina nacional se han centrado en la introducción de material genético del extranjero a través de la compra de ganado en pie y semen, que contribuyen a los procesos de mejora en la productividad y calidad del ganado de engorda en México (Gallardo y Villamar, 2004).

Existe una latente necesidad por implementar estrategias de mejoramiento de la eficiencia y productividad de los hatos ganaderos, destacando la habilidad de los mejores ejemplares bovinos para mantener una óptima producción, bajo las condiciones predominantes en las diferentes condiciones agroecológicas del país. En función de lo anterior, es necesario implementar programas y estrategias de mejoramiento que brinden oportunidades para el desarrollo ganadero logrando aumentar la producción de carne y satisfacer la demanda de productos cárnicos, para así mantenerse dentro de una competencia internacional.

## **2.2 Calidad de la carne**

La calidad de la carne bovina podría definirse como el conjunto de características logradas durante la producción y procesamiento que permiten brindar al consumidor un producto diferenciado con características que satisficen sus expectativas (Santrich, 2006).

El concepto de calidad de carne comprende una combinación de los siguientes aspectos: a) las características organolépticas o sensoriales, tales como la suavidad, el sabor, el aroma, el color y la jugosidad; b) el valor nutricional afectado mayormente por la composición química de la carne, como proteínas, grasa, vitaminas, minerales y carbohidratos) las condiciones higiénico-sanitarias o que implican seguridad del alimento y vida de anaquel, además de las constantes químicas y físicas que presenta la carne como pH, capacidad de retención de agua, conductividad térmica y consistencia, entre otros (Koochmaraie, 1997; McCarthy *et al.*, 2003).

Entre los atributos que más influyen en la satisfacción del consumidor, destacan la suavidad de la carne, jugosidad y el sabor de la carne cocida; de estos tres factores, la suavidad constituye el parámetro más importante con el que el consumidor juzga la calidad de la carne (Boleman *et al.*, 1997; Savell *et al.*, 1999). Las otras sensaciones, especialmente la jugosidad y la cantidad de tejido conectivo (residuo al masticar) están muy vinculadas a la suavidad evaluada por catadores (Huffman *et al.*, 1996).

Las características organolépticas se encuentran influenciadas por varios factores como la raza y edad del animal, el manejo *ante mortem* y *post mortem* de las canales, características intrínsecas del músculo y tejido conectivo, la intensidad de la proteólisis de

las fibras musculares y la temperatura de cocción de la carne (Huffman *et al.*, 1996). La calidad organoléptica es uno de los aspectos más importantes en el momento de seleccionar un tipo de carne. La experiencia del mercado en otros países demuestra que la calidad percibida por la mayoría de los clientes finales se refiere a los atributos sensoriales de la carne; es decir, a los atributos que perciben de la carne con los órganos de los sentidos y que inciden en la disposición del consumidor a pagar un buen precio para repetir dicha experiencia.

La suavidad de la carne se relaciona con los siguientes factores: 1) la proteólisis o degradación de la fibra muscular, producida por tres sistemas de enzimas, las catepsinas lisosomales, el sistema ubiquitina proteosomal y las proteasas calcio-dependientes 2) el estado contráctil del músculo, 3) la cantidad y grado de complejidad del colágeno y tejido conectivo, 4) la cantidad de grasa intramuscular o marmoleo y 5) la actividad de enzimas proteolíticas endógenas (Barton-Gade *et al.*, 1988; Oddy *et al.*, 2001). La variabilidad de cada uno de estos factores puede ser explicada por efectos genéticos y/o ambientales. Casas *et al.* (2005) señalan que el efecto genético aditivo controla el 30% de la variación de la suavidad y el 70% restante puede verse afectado por factores ambientales.

El marmoleo o tejido adiposo intramuscular, se encuentra en el perimio, y se considera como un atributo determinante de la jugosidad de la carne al combinarse los lípidos derretidos con el agua durante la masticación (Judge *et al.*, 1989). Nishimura *et al.* (1999) y Soria y Corva (2004), indican que sólo del 10 al 15% de las características de palatabilidad se puede atribuir al marmoleo. Nishimura *et al.* (1999) han sugerido que este tejido hace la carne más suave al disminuir la dureza en las uniones de las fibras de colágeno del perimio, debido a que el desarrollo de la grasa intramuscular modifica la organización (panal de abeja) del tejido conectivo, haciéndolo más delgado y frágil. De ahí que la acumulación de lípidos en este depósito es un carácter muy deseado y tiene gran influencia en la determinación del valor de la carne. Esta característica se encuentra incluida en los sistemas de graduación y clasificación de canales en países como Japón, Australia y Estados Unidos, donde es considerado el principal predictor de palatabilidad. (Strong, 2004). Es importante resaltar el impacto que tiene el marmoleo sobre el sabor y la jugosidad de la carne, ya que durante la masticación se produce un efecto de lubricación, lo cual estimula la salivación dando la sensación de jugosidad al consumidor (Thompson, 2004).



La falta de homogeneidad en la producción de carne suave que presenta la industria cárnica a nivel mundial, se ha convertido en la principal preocupación en el desarrollo de tecnología relacionada con el mejoramiento de la misma (Savell y Shackelford, 1992). La inconsistencia en la suavidad se debe no solo a la incapacidad de producir de forma rutinaria carne adecuadamente suave, sino a la incapacidad para identificar aquellos animales que poseen una carne más dura y clasificarlas adecuadamente (Koochmaraie, 1997).

### **2.2.1 Calidad de la carne mexicana**

Las tradiciones culturales en el consumo de productos cárnicos han hecho que la carne de ganado bovino sea el eje ordenador de la demanda y de los precios del resto de las carnes: el consumidor mexicano ha elaborado la mayoría de sus alimentos con carne de bovino; sin embargo en los últimos años, factores económicos y de salud han propiciado los cambios de hábitos en el consumo.

El crecimiento de la producción de carne ha sido muy discreto, en contraste con el aumento significativo de las importaciones, provenientes en su mayoría de Estados Unidos, (USMEF, 2012). Lo anterior, en conjunto con la no aplicación de aranceles a la carne importada, son aspectos que dificultan el desarrollo de la ganadería bovina nacional, a pesar de la creciente demanda en el Mercado interno, derivada en gran medida por el crecimiento de la población Mexicana (INEGI, 2011).

Existen estudios en los que se describe la calidad de la carne producida en México así como los atributos de calidad de las canales producidas en el país.

Delgado *et al.* (2005) comparan la composición y calidad de la carne mexicana con muestras de carne importada Choice y sin sello, comercializadas en el mercado formal mexicano y describen que la calidad de la carne nacional es muy diferente en la región norte, donde la carne presenta los mayores niveles de suavidad evaluada a través de la medición de la Fuerza de Corte y evaluación sensorial, lo que la hace muy similar a la carne Choice importada, pero con menor contenido de grasa. En las regiones centro y sur del país, la carne presenta indicadores de calidad más pobres, con bajo contenido de grasa y menor suavidad. Es importante mencionar que la cantidad de grasa intramuscular o marmoleo en la carne es similar en las tres regiones, lo que indica que la carne magra presenta una buena aceptación entre los consumidores mexicanos.

En otro estudio, Rubio *et al.* (2007) evaluaron y compararon la composición química y características sensoriales de 2 tipos de músculos de canales provenientes de México y EU, obteniendo que los músculos importados de EU contenían mayor cantidad de grasa intramuscular, menores valores de Fuerza de Corte y mayor aceptabilidad entre los consumidores que las muestras de carne nacional, las cuales resultaron ser menos jugosas, menos suaves y menos deseables.

Consistentemente se ha confirmado que las razas de origen índico producen carne menos suave que las razas europeas (Marshall, 1999; Shackelford *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996). Este aspecto de relación entre genética y suavidad es de gran relevancia para países como México, debido a la necesidad de explotar este tipo de ganado por cuestiones agroclimáticas. Shackelford *et al.* (1995) demostraron que la suavidad de diferentes músculos disminuye progresivamente a medida que aumenta el porcentaje de genes cebuínos en las cruzas, siendo esto más evidente cuando la contribución de la raza índica excede el 25%. Al respecto, Chávez *et al.* (2012) reportaron menores valores de fuerza de corte en diferentes músculos del cuarto delantero en ganado Charolais con respecto a animales Brahman destinados al consumo de carne en México.

Méndez *et al.* (2009) evaluaron la calidad y atributos de rendimiento de las canales que se comercializan a nivel nacional, y obtuvieron que más del 90% del ganado bovino que se sacrifica en el país presenta algún grado de inclusión *Bos indicus* en sus cruzas, lo que influye directamente sobre las características de calidad de la carne, como la suavidad y el marmoleo. La influencia cebuína se asocia a la pobreza de la calidad de la carne, especialmente para la suavidad, que es una característica fundamental para la satisfacción del consumidor.

Debido a estas condiciones, resulta de vital importancia que se continúe realizando investigación sobre la calidad de la carne mexicana, lo que permitiría que la industria cárnica nacional pueda competir con las importaciones identificando sus fortalezas y debilidades, solventando el desarrollo de nuevas estrategias para que los productores encuentren ventajas en la comercialización de sus productos dentro del Mercado nacional e internacional y se promueva una mejora en la calidad de la carne.

## **2.3 Mejoramiento genético**

Uno de los objetivos de los criadores de ganado bovino, es fomentar el incremento en el desempeño en sus animales en cuanto a producción, rendimiento y eficiencia para obtener productos alimenticios en cantidad y de alta calidad, para lo cual es necesario el establecimiento de programas de mejoramiento genético (Warwick y Legates, 1980).

El mejoramiento genético se puede realizar a través de dos métodos: la selección y los cruzamientos; sin embargo, para determinar la estrategia de mejoramiento a utilizar, se debe tener en cuenta qué característica del animal se requiere mantener en la población (Falconer, 1996).

Dentro de la producción ganadera se han establecido consensos con la participación de criadores de ganado de registro e instituciones gubernamentales a favor del mejoramiento genético. En ellos se emplean programas de mejora productiva basados en evaluaciones genéticas para generar diferencias esperadas en la progenie (DEP's) que son utilizadas como herramientas de selección, lo que permite comparar reproductores por la producción esperada en sus descendientes (Hansen y Riley, 2006).

### **2.3.1 Mejoramiento genético en el ganado bovino de carne**

La selección es la herramienta de mejoramiento genético animal que va a permitir mantener sólo a los animales que posean la mejor combinación de genes, y con esto aumentarlas frecuencias de los alelos deseados en sus descendientes. Bajo los supuestos del modelo infinitesimal, la efectividad de la selección dependerá de la intensidad de la misma, la heredabilidad de la característica a mejorar y de la magnitud de la varianza genética poblacional, lo que permitirá elegir a los animales que se usarán como progenitores. Debido a lo anterior, el cambio que se espera dependerá de la fracción heredable de la superioridad de esos padres sobre el promedio de la población a la que pertenecen (Dekkers y Hospital, 2002).

La selección en el ganado bovino se puede auxiliar de las siguientes estrategias:

- Selección por pedigrí. El pedigrí es un registro de los animales que están emparentados con él y se utiliza cuando se carece de información sobre el mérito real del animal. Esta selección únicamente toma en cuenta el criterio de ascendencia y conformación de los animales con respecto a sus progenitores,

que muchas veces no está relacionada con la habilidad o desempeño productivo real de los mismos (Warwick y Legates, 1980).

- Selección por prueba de progenie. Con esta prueba se puede evaluar el genotipo de un animal con base al comportamiento de sus descendientes. De la misma manera que el pedigrí, la prueba de progenie también se basa en la heredabilidad, y cuando ésta es baja, se requiere de más individuos para que la prueba sea más precisa, y su mayor limitación es el tiempo que tiene que transcurrir para obtener la información deseada (Warwick y Legates, 1980).
- Selección por prueba de comportamiento. Estas pruebas se basan en mediciones precisas de comportamiento de los animales seleccionados. El comportamiento de un animal es el resultado de la herencia individual y del efecto ambiental desde el momento de la fecundación hasta que se realizan las mediciones. En los programas de las pruebas de comportamiento se incluye una proporción de la población tan grande como sea posible para poder seleccionar un grupo de animales y así identificar a los mejores animales de la prueba (Warwick y Legates, 1980).
- Evaluaciones genéticas. Son estimaciones o cálculos donde los datos reproductivos, morfológicos, genealógicos, influencias ambientales y variabilidad genética, se integran en modelos estadísticos para estimar el valor genético de los animales y así poder seleccionar a los poseedores de los genes que se buscan sean transmitidos a su descendencia. El valor genético en una población comúnmente estimado como Valor Genético Estimado o Diferencias Esperadas en la Progenie (DEP) es una herramienta que permite predecir genéticamente la superioridad o inferioridad productiva promedio que el animal puede transmitir a su progenie. Para obtener este valor se integra la información de pedigrí y de los sistemas de control y registro de la producción (Mendoza, 1997). Las DEP's se consideran el mejor predictor del mérito genético del animal para una característica específica, hasta nueve veces mejor que los valores aislados e índices de selección. Todo lo anterior es considerando que la evaluación genética del animal está basada en toda la información productiva disponible tanto del animal como de sus parientes. Las DEP's sólo funcionan comparativamente entre

miembros de una misma población (Martínez-Velázquez, 2004; Hansen y Riley 2006; Parra-Bracamonte y Sifuentes-Rincón, 2008).

Las DEP's se pueden calcular mediante métodos estadísticos basados en los modelos mixtos como el BLUP (mejor predicción lineal insesgado). Este método permite remover los efectos ambientales del valor genético y obtener una estimación más exacta y se necesita tener registros productivos de los animales individualmente para inferir y comparar el desempeño productivo futuro de su descendencia.

### **2.3.2 El mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares**

La mayoría de las características económicamente importantes se encuentran controladas por muchos genes, cuya identidad por lo general se desconoce. Sin embargo, se ha identificado su localización aproximada en el genoma a través del uso de marcadores genéticos desarrollados en dichas regiones.

Actualmente, se tiene la capacidad de evaluar la composición genética de un animal mediante el uso de marcadores moleculares. Con el análisis de una muestra de tejido (pelo, sangre, músculo, etc.), se puede saber si un animal es portador de ciertos genes y si las combinaciones alélicas en el gen tendrán una influencia positiva o negativa cuando el gen se expresa en ese individuo. Este tipo de tecnología tiene un amplio impacto económico en la industria cárnica. El uso de marcadores genéticos ayuda a acelerar la selección de animales para características que son difíciles de medir debido a lo costoso de la recolección de datos, así como rasgos que se miden sólo en un sexo o que solo pueden ser medidos al final de la vida de un animal.(Parra-Bracamonte *et al.*, 2011).

Es importante mencionar que un alelo es una forma alternativa de un gen. Los animales que tienen el mismo alelo en un *locus* dado son homocigotos (BB, bb), mientras que los animales con diferentes alelos en el mismo *locus* son heterocigotos (Bb). Las mutaciones de un solo nucleótido, llamados polimorfismo de un solo nucleótido (por sus siglas en inglés SNP) pueden afectar la expresión de un gen, especialmente si la mutación tiene lugar en una región codificante y de importancia a la proteína que se origina. Estos tipos de mutaciones conducen a una secuencia de nucleótidos específica

que da lugar a genes marcadores, fácilmente detectables, los cuales se pueden utilizar para diferenciar entre alelos en un *locus* (Hansen, 2004).

Se han identificado genes que influyen en rasgos específicos de interés económico para los ganaderos, los cuales se pueden clasificar en dos categorías básicas: características cualitativas y cuantitativas. Las características cualitativas implican la expresión de un gen único con variación en su expresión debido a alelos diferentes (pelaje color negro o rojo, cuerno o sin cuernos, doble musculatura), mientras que las características cuantitativas implican la interacción de varios genes y múltiples combinaciones alélicas (características de la canal, crecimiento y producción de carne). Los rasgos de importancia económica del ganado, en su mayoría son de carácter poligénico y afectan la expresión del rasgo porque cada gen involucrado tiene un pequeño efecto. Un marcador molecular se define como una región específica del genoma, que presenta polimorfismo asociado positiva o negativamente con un rasgo de interés (Kappes *et al.*, 1997).

El posicionamiento de marcadores moleculares tiene importantes aplicaciones en el mapeo de *loci* de caracteres cuantitativos (por sus sigla en inglés QTL), lo que ha dado mayores oportunidades en los programas de mejoramiento genético en el ganado, ya que se hace posible la selección directa de animales portadores de genes o regiones génicas que afectan rasgos económicos, a este concepto se le conoce como Selección Asistida por marcadores (SAM) y es el proceso de usar los marcadores genéticos para asistir la selección de los progenitores de las siguientes generaciones en un programa de mejoramiento genético (Van Eeneenam, 2007) complementando la información proveniente de la estimación de parámetros de los valores genéticos a través de las DEPs de tal manera, que la información molecular es incluida en el proceso de estimación de los valores genéticos (Allan y Smith, 2008).

Se han sugerido algunos factores que afectan la respuesta a la Selección Asistida por Marcadores, entre los que se encuentran: 1) tamaño de la variabilidad del QTL, 2) heredabilidad de la característica, 3) dificultad en la medición de la característica de interés (Meuwissen y Goddard, 1996). La SAM suele ser más eficiente al utilizarse para seleccionar aquellas características que tienen baja heredabilidad (rasgos en los que la medición individual es predictor inexacto debido a la alta influencia ambiental) o en

aquellas que pueden ser medidas hasta que el individuo es adulto y ya ha contribuido a la siguiente generación, las que son difíciles y costosas de medir o inclusive cuando se requiere que el animal sea sacrificado para poderla medir; también aquellas que no son seleccionadas porque rutinariamente no son medidas (suavidad) y que son características correlacionadas con otras que no se quieren mejorar (Van Eenennaam, 2007).

Grandes multinacionales han puesto en el mercado pruebas comerciales que ofrecen la posibilidad de seleccionar reproductores mediante la identificación de polimorfismos asociados a fenotipos de interés productivo, como lo es la suavidad y marmoleo de la carne, (Van Eenennaam *et al.*, 2007a), ofreciendo las predicciones estimadas para cada variante favorable. A pesar de lo anterior, el efecto de dichos marcadores sobre características que modifican la calidad de la carne no ha sido contundente (Bonilla, 2008, Bonilla *et al.*, 2010; Corva *et al.*, 2007, Allais *et al.*, 2010). Algunas de éstas compañías se pueden observar en el Cuadro 1.

Adicionalmente, será muy importante validar la utilidad extensiva de los marcadores sobre estas características de calidad, definir las estrategias de mejoramiento genético en la población mexicana y la ganancia económica potencial al fijar sus alelos favorables.

**Cuadro 1. Principales compañías que comercializan pruebas para la identificación de variantes alélicas asociadas a características productivas**

Compañía	Prueba disponible	Gen involucrado/ localización	Característica	Sitio web
Genetic Solutions	GeneSTAR Tenderness	Calpastatina- BTA 7	Suavidad	<a href="http://www.geneticsolutions.com.au">www.geneticsolutions.com.au</a>
	GeneSTAR Tenderness2	Calpastatina- BTA 7 + Calpain 1-BTA29	Suavidad	
Frontier Beef System	GeneSTAR Marbling	Tiroglobulina-BTA 14	Marmoleo	<a href="http://www.frontierbeefsystems.com">www.frontierbeefsystems.com</a>
	TenderGENE	Calpain 1-BTA29	Suavidad	
Genmark	Myostatin-Piedmontese	Miostatina-BTA2	Rendimiento/ Suavidad	<a href="http://www.genmarkag.com">www.genmarkag.com</a>
Merial	Igenity-L	Leptin-BTA4	Regulación apetito/Marmoleo	<a href="http://www.igenity.com">www.igenity.com</a>

## 2.4 Tipos de marcadores moleculares

La aplicación de la genética molecular para el mejoramiento genético se basa en la capacidad de identificar el genotipo que portan los individuos en *loci* genéticos específicos que previamente han sido asociados con características productivas. Se han descrito tres tipos de marcadores moleculares:

- Marcadores de tipo I ó marcadores directos. Son genes que codifican para proteínas asociadas a rasgos productivos o funciones fisiológicas que puedan producir una variación en el fenotipo debida a un polimorfismo en su secuencia de ADN (O'Brien *et al.*, 1999).
- Marcadores de tipo II. Se les conoce también como marcadores indirectos porque brindan información indirecta del efecto del gen. Estos marcadores se emplean en las evaluaciones de pedigrí, mapeo de genes. Un ejemplo son los microsatélites (O'Brien *et al.*, 1999).
- Marcadores de tipo III ó SNP. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son cambios o mutaciones que ocurren en un solo nucleótido tanto en regiones codificantes como no codificantes (exones, intrones y regiones intragénicas) (Dekkers y Hospital, 2002). Son llamados mutaciones puntuales o funcionales y se emplean en la identificación de características asociadas con la producción. Estas variantes pueden consistir en transiciones (cambios de purina/purina o pirimidina/pirimidina) o transversiones (cambios de purina/pirimidina y viceversa), con una probabilidad más alta de ocurrencia en las últimas.

Actualmente, los tres tipos de marcadores han mostrado ser efectivos para el desarrollo de estrategias de SAM, sin embargo, es importante considerar que para que un marcador pueda ser considerado como predictor de una característica cuantitativa, es necesaria su validación. La validación consiste en la comprobación del efecto independiente de marcadores genéticos disponibles comercialmente. En estos casos, las compañías que ofertan servicios de detección molecular afirman la asociación de los marcadores sobre una o varias características específicas. Las validaciones se realizan en poblaciones lo suficientemente grandes a través del análisis de los genotipos con los fenotipos en colaboración con las asociaciones ganaderas (Van Enennaam *et al.*, 2007).



## 2.5 Marcadores moleculares asociados con la calidad de la carne

El concepto de calidad organoléptica engloba los atributos de un alimento que se perciben por medio de los sentidos al momento de la compra o el consumo, como son el color, sabor, aroma jugosidad y suavidad (Judge *et al.*, 1989). De estos factores, la suavidad ha demostrado ser el principal criterio con base al cual los consumidores juzgan la calidad de la carne. Sin embargo, para un gran sector de la población mexicana, el parámetro que más influye en la decisión de compra es el precio de la carne.

La suavidad se encuentra muy influenciada por factores como la constitución genética, edad y especie del animal, el manejo y la alimentación, así como las prácticas durante la matanza y procesos industriales posteriores a ella (Soria y Corva, 2004).

A diferencia de otras características detectables en el animal vivo, la suavidad es difícil de predecir debido a que no es verificable hasta después de la matanza.

La calidad de la carne se encuentra influenciada por la ultra estructura que conforman los diferentes componentes de la misma, tales como las proteínas, la grasa y el tejido conectivo, así como por la cantidad y calidad de estos componentes (Takahashi, 1992). De este modo la composición y organización estructural sumadas a los cambios bioquímicos *post mortem* son elementos importantes al describir el mecanismo que define la calidad final del producto (Chacón, 2004).

El marmoleo o grasa intramuscular se considera un atributo determinante en la jugosidad de la carne al combinarse los lípidos derretidos con el agua durante la masticación, por lo tanto, también se relaciona con la suavidad, razón por la cual la industria norteamericana le da mucho peso a la clasificación de canales por calidad (Judge *et al.*, 1989).

Thompson (2004) discutió un mecanismo por el cual la grasa intramuscular impacta en la suavidad de la carne, determinando que el marmoleo presenta una relación positiva sobre la jugosidad y el sabor de la carne. La grasa depositada en las células perivasculares del perimio tiene un efecto positivo sobre la dureza del tejido conectivo, por lo tanto, cuando el marmoleo es alto, se reduce la dureza del tejido conectivo. Animales con dietas altas en energía, en un sistema intensivo, producen carne con más grasa intramuscular que cuando se mantienen en pastoreo (Bindon, 2004).

A pesar de todos los factores intervinientes, resultados de investigaciones (Casas *et al.*, 2005 y 2006; White *et al.*, 2005; Van Eenennaam *et al.*, 2007) indican que la calidad de la carne puede ser incrementada a través de la mejora genética de los animales, implementando el uso de los marcadores moleculares en su predicción y en el mejoramiento animal.

En diferentes poblaciones bovinas, se han identificado SNP que tienen un efecto sobre aspectos de la calidad de la carne, como por ejemplo, los genes de la Calpaína I y Calpastatina se encuentran relacionados con la suavidad, los genes Tiroglobulina y Leptina influyen en la deposición de marmoleo en las canales y el gen de la Hormona del Crecimiento sobre el área del ojo de la chuleta y parámetros de rendimiento (Casas *et al.*, 2006 y 2007; Barendse, 2004; Buchanan *et al.*, 2002).

Bonilla *et al.* (2010) en un estudio sobre carne mexicana, cuyo objetivo era determinar la frecuencia y asociación de algunos marcadores moleculares relacionados con rasgos de calidad de la carne comercializada formalmente, muestran los efectos significativos de los marcadores Calpaína y Tiroglobulina sobre la suavidad y marmoleo de la carne producida; sin embargo, el no contemplar los antecedentes raciales de las canales evaluadas limitó su implementación.

### **2.5.1 Calpaína 1 (CAPN1)**

Se han identificado molecularmente factores biológicos que influyen en la suavidad de la carne como el sistema de las calpaínas. La familia de las calpaínas está compuesta por 14 miembros de cisteín-proteasas no lisosomales activadas por calcio, además de los inhibidores endógenos de las mismas, las calpastatinas. Las 2 isoformas mejor caracterizadas de las calpaínas son la CAPN1 ( $\mu$ -CAPN) y CAPN2 (m-CAPN), cuyos nombres hacen referencia a los requerimientos de calcio que necesitan para activarse (Koochmaraie *et al.*, 1995; Oddy *et al.*, 2001) y son enzimas proteolíticas que debilitan la unión de la actina a los discos Z, la troponina T y la tropomiosina durante la maduración *post mortem*, contribuyendo al ablandamiento de la carne (Koochmaraie, 1998).

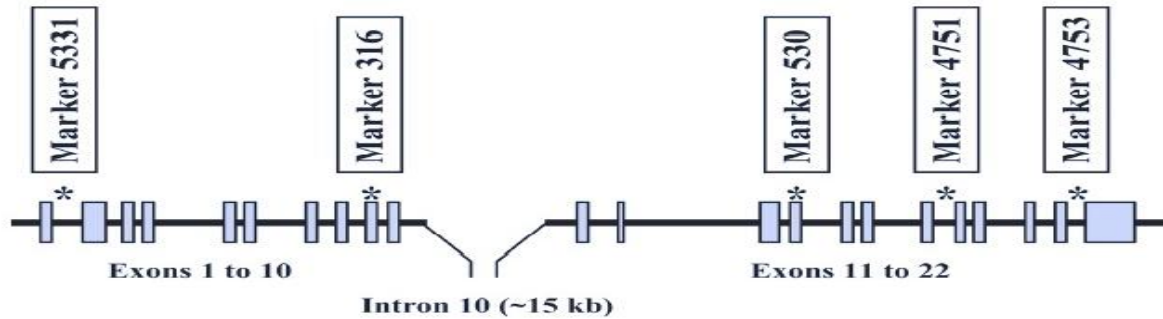
La  $\mu$ -CAPN y m-CAPN están compuestas por dos subunidades con pesos moleculares de 28 y 80 kDa, respectivamente. A pesar de que ambas calpaínas poseen pequeñas subunidades idénticas, son genéticamente diferentes en las subunidades

grandes, pero comparten la habilidad de autólisis en presencia de calcio (Hocquette y Gigli, 2005).

Debido a su baja especificidad, las calpaínas no degradan proteínas hasta sus aminoácidos constituyentes y tampoco degradan las proteínas miofibrilares mayoritarias (actina y miosina) (Goll *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha hipotetizado que su papel en el músculo es iniciar la proteólisis específica de determinadas proteínas miofibrilares como la titina, nebulina y los filamentos de desmina durante las primeras 24 h *post mortem* (Koohmaraie *et al.*, 1992).

El gen de la calpaína se localiza en el cromosoma 29 (BTA 29) y dentro del gen se han identificado diferentes SNP, entre los que se encuentran los marcadores 316 y 4751, ambos fuertemente asociados a la suavidad de la carne. El marcador 316 está ubicado en el exón 9 en la posición 5709, y corresponde a una transversión G/C que produce un cambio de Glicina por Alanina. La presencia de alanina en la estructura de CAPN1 está asociada con mayor suavidad (Van Eenennaam *et al.*, 2007). Ha sido ampliamente probado que la carne procedente de animales *Bos indicus* posee menor suavidad al compararla con la de *Bos taurus* y esto se debe a la diferencia en el sistema de las calpaínas entre ambas razas (Barendse *et al.*, 2008; Café *et al.*, 2010) principalmente a la elevada actividad de la calpastatina (proteína inhibidora del sistemas de las calpaínas) a las 24 h *post mortem*, así como un mayor contenido de colágeno insoluble en razas *Bos indicus* (Wheeler *et al.*, 1990; Shackelford *et al.*, 1991; Riley *et al.*, 2005).

El marcador 4751 localizado entre el intrón 17 y el exón 18 del gen de la calpaína, se ubica en la posición 6545 producido a causa de una transición de C/T (White *et al.*, 2005); este SNP se ha relacionado con la suavidad de la carne en poblaciones bovinas (Casas *et al.*, 2005; Van Eenennaam *et al.*, 2007).



**Figura 1. Ubicación genómica de los marcadores CAPN1 316 y CAPN1 4751 en el gen CAPN1.** El gen CAPN1 se localiza en el cromosoma 29 y tiene una longitud de 30 kb y 22 exones. El marcador 316 se localiza en el exón 9, mientras que el 4751 se ubica en el intrón 17.

Fuente: White *et al.*, 2005

### 2.5.2 Calpastatina (CAST)

Se ha demostrado que la calpastatina es un inhibidor competitivo de dos proteasas dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$ , la  $\mu$ -calpaína y la  $m$ -calpaína (Eimori *et al.*, 1988). En presencia de  $\text{Ca}^{2+}$  una molécula de calpastatina puede inhibir hasta cuatro moléculas de calpaína (Cong *et al.*, 1998). Las calpaínas producen la desorganización de la estructura del tejido muscular por proteólisis, fundamentalmente de las costámeras y filamentos intermedios de desmina después de la muerte y la calpastatina interfiere con este proceso por ser el inhibidor de las enzimas proteolíticas que lo producen (Koochmaraie, 1994; Taylor *et al.*, 1995). La entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a la célula modifica la localización intracelular de ambas enzimas. El  $\text{Ca}^{2+}$  se une a las calpaínas, provocando que éstas se asocien a la cara interna de la membrana plasmática para captar más  $\text{Ca}^{2+}$ . En cambio, la calpastatina difunde al citosol contrarrestando el efecto proteolítico de las calpaínas (De Tullio *et al.*, 1999). Durante las primeras 72 h de almacenamiento de la carne se produce hasta el 80% del ablandamiento máximo posible por efecto de la proteólisis *post mortem* del músculo y este efecto está relacionado con alta actividad de la  $\mu$ -calpaína y baja actividad de la calpastatina (Koochmaraie, 1996; Kent *et al.*, 2004; Geesink *et al.*, 2006).

La calpastatina se degrada casi completamente durante los primeros 7 días *post mortem*, y la actividad de dicha enzima desciende al 20-30% de su nivel original durante este período (Boehm *et al.*, 1998; Rhee *et al.*, 2006). Muchos trabajos coinciden en que la concentración de calpastatina al momento de la muerte del animal es uno de los factores que afecta la calidad de la carne. Si al momento del sacrificio los niveles de calpastatina son altos, la carne será menos tierna (Sensky *et al.*, 2001). La actividad de la calpastatina

se encuentra altamente asociada a la suavidad de la carne. Esta actividad se incrementa linealmente con el aumento del porcentaje de genes cebuinos en animales cruzados, hasta alcanzar su máximo en animales *Bos indicus* puros (Wheeler *et al.*, 1990; Whipple *et al.*, 1990). De igual manera, la relación calpastatina/calpaína se incrementa linealmente con el aumento del porcentaje de raza cebuina en la cruce, lo que da como resultado una carne más dura.

La calpastatina está codificada por el gen CAST, localizado en el cromosoma 7 del bovino (Bishop *et al.*, 1994) y está organizado en 35 exones y sus respectivos intrones, abarcando aproximadamente 130 kb. En este gen se pueden expresar cuatro isoformas proteicas diferentes debido a la existencia de cuatro promotores distintos.

Hasta el momento se han identificado varios polimorfismos del tipo SNP en el gen CAST, algunos de los cuales han sido asociados significativamente con variabilidad en la suavidad de la carne bovina, esto permite que se pueda estudiar la posible asociación de los mismos con caracteres de importancia económica.

Esta información molecular permitiría realizar selección directamente por el genotipo al aplicar SAM, lo que es muy valioso en rasgos cuantitativos de difícil medición como es el caso de la suavidad. Barendse (2002) identificó una sustitución de Guanina por Adenina (G/A) en el extremo 3' no traducido del ARN mensajero de CAST (posición 2959 de la secuencia AF159246 del Gamban), estableciendo que el alelo A se asociaba a carne más tierna. Este resultado fue posteriormente confirmado por Casas *et al.* (2006) utilizando diferentes razas puras *Bos taurus* y *Bos indicus* y sus cruces, todas pertenecientes al Proyecto de Evaluación de Germoplasma del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en Clay Center, Nebraska. Se han desarrollado pruebas comerciales para determinar genotipos de los SNP asociados con variabilidad en la suavidad en los genes del sistema calpastatina/ $\mu$ -calpaína (CAST y CAPN1 respectivamente). La prueba GeneStar Tenderness (Bovigen LLC Harahan, LA) incluye al SNP del CAST descrito por Barendse (2002), mientras que el test Igenity Tender-GENE (Merial Limited, Duluth, GA) incluye al SNP identificado por Schenkel *et al.* (2006). Estos test incluyen al menos, dos SNP del gen CAPN1 (CAPN1 316 y CAPN1 4751).

### 2.5.3 Tiroglobulina (TG)

La tiroglobulina (TG) es una glicoproteína hormonal producto de la síntesis de las células foliculares de la tiroides. La TG es almacenada dentro del tejido de la glándula tiroidea y es secretada para activar las formas T3 (Triyodotironina) y T4 (Tiroxina) involucradas en la regulación del metabolismo de lípidos y la deposición de la grasa (Qian-Fu *et al.*, 2008). La tiroglobulina tiene un rol indirecto en la regulación metabólica; sin embargo, la velocidad de expresión del gen, tiene efectos directos sobre la producción de las principales hormonas tiroideas y estas a su vez sobre la deposición de la grasa (Harper y Pethrick, 2004).

El gen de la TG se localiza en el brazo largo del cromosoma 14 (BTA14). Uno de los polimorfismos reportados dentro del gen se localiza en la región 5' no traducible en la posición -537, el cual está involucrado en la regulación del gen y se le ha relacionado con la infiltración de la grasa intramuscular, conocida como marmoleo de la carne (Barendse *et al.*, 2001 y 2004).

El marmoleo tiene un efecto en el sabor y lubricación durante la masticación, obteniéndose una sensación de jugosidad en la carne cocida (Judge *et al.*, 1989; Thompson, 2004). Harper y Pethick (2001) señalan que la heredabilidad del marmoleo fluctúa entre moderada a alta y que su expresión a nivel fenotípico presenta diferencias significativas entre distintas razas.

Por ejemplo, se ha observado que el ganado especializado en producción de carne presenta mayores porcentajes de marmoleo en el músculo *Longissimus dorsi* que en los animales de tipo lechero (Harper y Pethick, 2001). El porcentaje de marmoleo disminuye conforme aumenta la proporción de *Bos indicus* en las cruzas con ganado *Bos taurus*, como lo demuestra un estudio realizado con novillos de diferentes razas, cuyo objetivo era determinar el porcentaje de marmoleo en el músculo *Longissimus dorsi*, en el que se encontró que en las canales de la razas británicas obtuvieron los mayores valores de marmoleo; las cruzas de ganado *Bos indicus* con una raza británica mostraron valores intermedios, mientras que el ganado con alto grado de Brahman tuvo un porcentaje de marmoleo marcadamente pobre (Bindon, 2004).

El marmoleo es uno de los principales parámetros utilizados para la valoración de la calidad de la carne ya que influye directamente en sus características organolépticas.

Por esta razón, en numerosos países como Canadá, se pagan bonificaciones a los ganaderos que produzcan carnes de calidad AAA o Premium (Carpoica, 2005).

Este antecedente, sumado al hecho de que la tiroglobulina es el precursor de hormonas que afectan el metabolismo de los lípidos, posicionó a este gen como un candidato funcional para estudios de selección asistida por marcadores. Posteriormente se observó que en ganado de las razas Holstein alemana y Charolais, los animales homocigotos TT de este gen, tenían más grasa en el músculo *Longissimus dorsi* que animales heterocigotos CT o los homocigotos CC. Este hallazgo fue posteriormente validado por el Consorcio Nacional de Evaluación de Ganado de Carne (NCEC, por sus siglas en inglés), en animales generados a partir de cruza Simmental x Angus, derivando en unas de las primeras pruebas comerciales disponibles para los productores (Casas *et al.*, 2007).

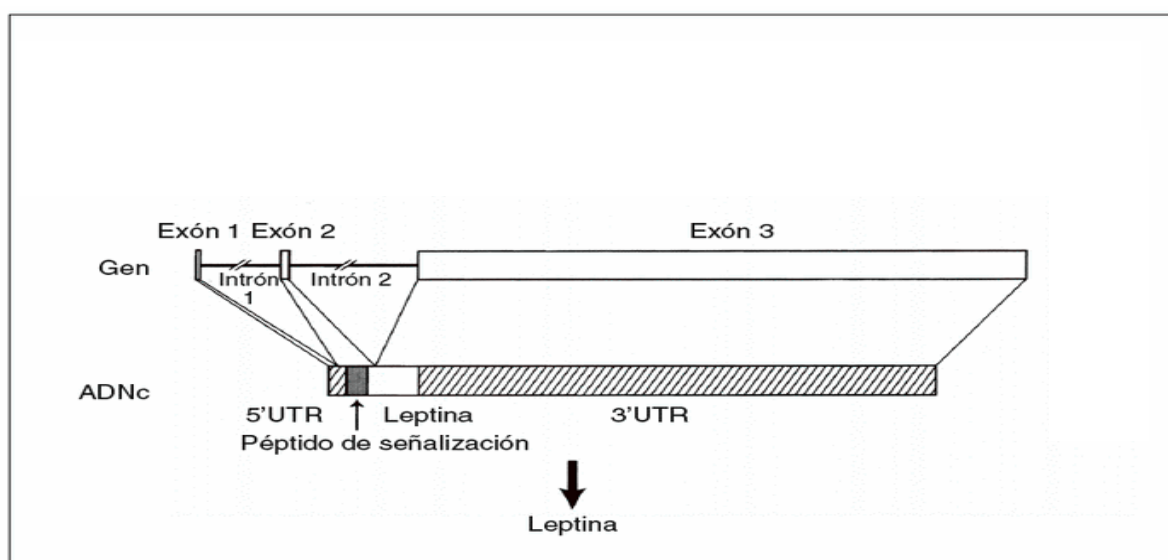
Actualmente, varias compañías ofrecen marcadores relacionados con la calidad, entre los cuales se encuentran los tests de prueba GeneSTAR™ Quality Grade marker panel, que evalúa el marmoleo e incluye al marcador TG5 y un SNP anónimo. Si un animal carece del alelo favorable se califica sin estrella ó 0, si tiene un alelo obtendrá 1 estrella y con dos copias del alelo favorable se califica con 2 estrellas (Paschal, SA; Hansen, 2004).

#### **2.5.4 Leptina (Lep)**

La importancia económica de los factores relacionados con el apetito, tales como el consumo de alimento, ganancia diaria de peso y la deposición de grasa ha conducido al estudio del efecto de la leptina sobre las características de la canal en el ganado bovino.

La leptina es una hormona proteica de 16 KDa, compuesta de 146 aminoácidos y sintetizada principalmente por el tejido adiposo; juega un papel importante en el control del peso corporal, producción de leche, consumo de alimento y en la reproducción (Block *et al.*, 2001). Presenta entre 84 y 97% de homología en ratones, ratas, humanos y bovinos (Tartaglia, 1995). Es secretada por los adipocitos a la sangre y luego transportada al hipotálamo, donde actúa para estimular factores que aumentan el consumo de alimento, el gasto energético, aumento de la actividad física y la regulación del peso corporal (Geary *et al.*, 2003).

Esta hormona es codificada por el gen *ob*, localizado en el cromosoma 4, y presenta 3 exones y sus respectivos intrones, con las regiones codificantes ubicadas en los exones 2 y 3. (Buchanan *et al.*, 2002; Kononof *et al.*, 2005). Se ha encontrado que las concentraciones séricas de leptina 24 h antes de la matanza se correlacionan significativamente con variaciones en el consumo de alimento, el marmoleo y el grado de rendimiento en la canal (Wegner *et al.*, 2001; Geary *et al.*, 2003). Diferentes niveles de leptina sérica han sido reportados en razas Angus, Brahman y Brangus, siendo las razas británicas las que presentan una mayor concentración de esta hormona (Thomas *et al.*, 2002).



**Figura 2. Estructura del gen Leptina.** Se puede observar las regiones codificantes en los exones 2 y 3

**Fuente:** Adaptación hecha por Henriquez *et al.*, 2006

En ratones, el gen mutado *ob* en forma homocigótica (*ob/ob*) produce una leptina biológicamente inactiva determinando hiperfagia, reducción del gasto de energía y obesidad genética (Tartaglia, 1995).

En el ganado bovino se han identificado varios polimorfismos en el gen de la Leptina asociados con canales más engrasadas (Fitzsimmons *et al.*, 1998), mayor espesor de la grasa dorsal y suavidad de la carne (Schenkel *et al.*, 2005), calidad y grado de rendimiento de la canal (Kononoff *et al.*, 2005), consumo de alimento y ganancia diaria de peso en el ganado (Nkrumah *et al.*, 2005) entre otros.



Dentro del exón 2, se han descrito dos polimorfismos: el primero consiste en una sustitución de A/T que resulta en un cambio de aminoácido de Tirosina a Fenilalanina (Lagonigro *et al.*, 2003); el segundo polimorfismo se produce debido a la sustitución de Citosina (C) por Timina (T), lo que a su vez conduce a la sustitución aminoacídica de Arginina por Cisteína, produciendo efectos fisiológicos observables en el fenotipo. Buchanan *et al.* (2002) reportaron que la transición de C a T en el codón 25 del exón 2 del gen de la leptina, estuvo asociada con la deposición de grasa corporal en el ganado de carne, y que el alelo T corresponde a un incremento en los niveles de ARNm en el tejido adiposo y mayores niveles de grasa en la canal, mientras que el alelo C se asocia a canales magras.

Geary *et al.* (2003) y Corva *et al.* (2004) encontraron que el alelo T estuvo asociado con canales provenientes de animales más pesados y el alelo C con canales poco engrasadas de animales más ligeros. En otro estudio, Corva *et al.* (2009) estudiaron el polimorfismo del exón 2 del gen de la leptina en novillos Brangus, donde encontraron asociación de este SNP con medidas de la canal, específicamente, espesor de la grasa dorsal y rendimiento en canal. Los animales que presentaron genotipos CT mostraron mayores valores de rendimiento en canal a diferencia del grupo con genotipos TT.

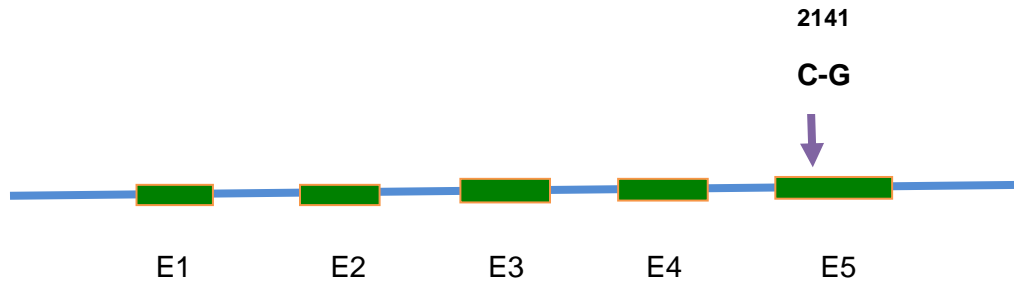
La mayoría de los estudios existentes que involucran el gen de la leptina se han centrado en evaluar la asociación entre el gen y su efecto sobre las características de la canal. Di Stasio *et al.* (2007) reportaron uno de los pocos estudios que incluyen asociación con características de crecimiento. Evaluaron una población de 59 toretes de la raza Blonde d' Aquitaine, en la cual la presencia del alelo C obtuvo efectos favorables sobre la ganancia de peso.

### **2.5.5 Hormona de Crecimiento (GH)**

La GH es una hormona de 191 aminoácidos que se produce en la hipófisis anterior con un peso molecular de 22 kDa. La hormona de crecimiento (GH) y los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I, IGF-II) regulan el crecimiento, diferenciación, metabolismo y expresión génica en múltiples tipos celulares, a través de mecanismos autócrinos y parácrinos, además del clásico endócrino (Etherton y Bauman, 1998).

El gen que codifica para la hormona de crecimiento bovina (bGH) se encuentra ubicado en el cromosoma 19, tiene una longitud aproximada de 2856 pb (Gordon *et al.*,

1983) y está constituido por cinco exones, separado por cuatro intrones de diferente longitud.



**Figura 3. Estructura del gen GH.** Se muestran los 5 exones del gen y la flecha señala la ubicación del polimorfismo C/G en la secuencia nucleotídica

Los efectos de la hormona se rigen por dos mecanismos de acción: uno somatogénico y otro metabólico. El primero estimula la proliferación de las células por medio del factor de crecimiento similar a insulina (IGF-I) y el segundo afecta principalmente el metabolismo de lípidos, aminoácidos, carbohidratos y minerales; ambos mecanismos afectan muchos procesos fisiológicos de interés productivo como: el crecimiento, la lactación (Yao *et al.*, 1996; Etherthon y Bauman, 1998; Etherthon, 2004) y ciertas características reproductivas (Unanian *et al.*, 2002), así como también la respuesta inmune (Blalock, 1994). Se ha observado que altas concentraciones de bGH o administración exógena de bGH recombinante (bGHR), provocan incremento eficiente de peso, disminución de grasa muscular y mayor producción de leche entre otras (Etherthon y Bauman, 1998, Sørensen *et al.*, 2002; Etherthon, 2004).

A la fecha, ya son más de diez los polimorfismos reportados en el gen bGH; sin embargo, la mayoría se encuentran en zonas no codificantes. Se ha encontrado cierto grado de asociación con rasgos productivos de ciertos SNP, siendo el localizado en la posición 2141 nucleotídica del exón V, uno de los más estudiados por producir un cambio de Citosina (C) por Guanina (G), lo que a su vez produce el cambio de Leucina (L) por Valina (V) en la posición aminoacídica 127 de bGH (Yao *et al.*, 1996). En este SNP se ha encontrado asociación a rasgos productivos como ganancia de peso vivo e incremento en el marmoleo y acumulación de grasa en la grupa, en diferentes razas de ganado (Dybus, 2002; Sørensen *et al.*, 2002; Barendse *et al.*, 2006). Se ha demostrado que la presencia

de Leucina en tal posición, se encuentra asociada a mayores niveles de bGH en plasma y por lo tanto, tiende a potencializar los efectos de la hormona (Sørensen *et al.*, 2002).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la genética molecular ha probado ser una herramienta auxiliar en el mejoramiento genético, mediante la implementación de técnicas moleculares que permiten el adecuado manejo de aquellos animales portadores de variaciones génicas favorables para las características de la calidad de la carne y que facilitan los diferentes estadios de manejo en las poblaciones de pie de cría con la selección asistida y del ganado comercial destinado al consumo humano.

La carne producida en México y comercializada en diferentes regiones del país exhibe una gran variabilidad en cuanto a sus indicadores de calidad, principalmente para la suavidad y el marmoleo. Sin embargo, cada vez es más frecuente la aparición de nichos de mercado que demandan carne de mejor calidad y que están dispuestos a pagar por un producto con valor agregado. Es por ello que surge la necesidad de evaluar científicamente estrategias de identificación de fuentes de variación que tienen un efecto sobre la variabilidad de estas características para que mediante su manejo permitan la mejora significativa del producto final.

Los marcadores TG5, CAPN1 316, CAPN1 4751, CAST T1, LEP y GH/Alu han sido evaluados en diferentes poblaciones de bovinos y se ha demostrado su asociación significativa con los diferentes caracteres relacionados a la calidad de la carne bovina. Esto los hace candidatos ideales para su evaluación en las unidades de producción mexicanas, para determinar su aplicabilidad en estudios de validación como el presente, justificando su implementación en las estrategias de mejoramiento de las razas bovinas comerciales del país destinadas a la producción de carne.

#### **4. OBJETIVO GENERAL**

Conocer las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismo en los genes Calpaína (CAPN1), Tiroglobulina (TG), Calpastatina (CAST), Leptina (LEP) y Hormona de Crecimiento (GH) del ganado productor de carne en México, para evaluar su asociación con algunas características de la calidad organoléptica de la carne bovina comercial en México.

##### **4.1 Objetivos específicos**

1. Estimar las frecuencias genotípicas y alélicas de los marcadores: Calpaína (CAPN1), Tiroglobulina (TG), Calpastatina (CAST), Leptina (LEP) y Hormona de Crecimiento (GH).
2. Cuantificar el efecto de los SNP CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 sobre las características de la suavidad de la carne a través de la medición de la Fuerza de Corte, el efecto que presentan TG-5 y LEP sobre el marmoleo medido por apreciación visual y la influencia de *GH/AluI* sobre el área del ojo de la chuleta como parámetro de rendimiento.
3. Evaluar el efecto de algunos factores de manejo del ciclo de producción de carne (grupo genético, edad, tiempo de finalización, días de engorda y sexo) sobre las características de la calidad de la carne.

## **5. HIPÓTESIS**

Si los alelos de los genes CAPN1, CAST, TG, LEP y GH se encuentran asociados con la calidad de la carne de bovino, al conocer las diferentes frecuencias se podrán correlacionar con la suavidad y el marmoleo de la carne bovina.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron las muestras provenientes de 196 canales de bovino, de las cuales 109 fueron obtenidas de rastros TIF ubicados en el norte del país, 20 en el centro y 67 en el sureste del país. La información referente a la procedencia de los animales (raza, sexo, edad y días de engorda) se obtuvo mediante el levantamiento de un cuestionario a los productores (Anexo I).

### 6.1 Análisis en rastro

La evaluación de las canales se realizó 24 h *post mortem* bajo condiciones de refrigeración (0 a 4°C).

#### 6.1.1 Medición del marmoleo

La presencia de grasa intramuscular o marmoleo se estimó por apreciación visual sobre el músculo *Longissimus dorsi* a nivel de la 12ª y 13ª costillas, haciendo una comparación con los estándares de marmoleo utilizados en el sistema de evaluación USDA (1997) a la que se le hizo una adaptación de acuerdo a las características de las canales mexicanas presentada en el cuadro 2.

**Cuadro 2. Escala del marmoleo**

Marmoleo	Escala
Magra	0
Trazas	1
Ligero	2
Pequeño	3
Modesto	4
Moderado	5
Ligeramente abundante	6

### **6.1.2 Medición del área del ojo de la chuleta**

Se realizó en el musculo *Longissimus dorsi* entre la 12<sup>a</sup> y 13<sup>a</sup> costillas, mediante un planímetro (USDA, 1997). Se trazó el perímetro del músculo sobre un acetato y posteriormente se sobrepuso la plantilla al acetato y se procedió a contar las pulgadas cuadradas del área del ojo de chuleta, una vez obtenida la medida se convirtió a centímetros cuadrados.

## **6.2 Análisis en el laboratorio**

### **6.2.1 Medición de la Fuerza de Corte**

Para la medición de la Fuerza de Corte, las muestras fueron maduras en condiciones de refrigeración a una temperatura de 0-4°C durante 14 días. El método utilizado fue el descrito según el AMSA (1995) que consiste en colocar la muestra en una parrilla eléctrica, monitoreando la temperatura del centro geométrico de la carne utilizando un termómetro portátil (HANNA) hasta alcanzar los 70°C para posteriormente dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente (12-14°C). Una vez atemperada la carne, se procede a obtener los cilindros de 1 cm de diámetro por 5 cm de largo, mediante un taladro adaptado. Finalmente, los cilindros serán cortados por la cuchilla Warner Bratzler para obtener la Fuerza de Corte en kg/cm<sup>2</sup>.

En paralelo, se separaron 15 g de carne sin grasa ni tejido conectivo de las 196 muestras recolectadas, los cuales se mantuvieron envasadas en frascos de plástico y en cámaras de congelación a -20±1°C hasta su posterior procesamiento en el Laboratorio de Biotecnología Animal del Centro de Biotecnología Genómica del IPN, ubicado en Reynosa, Tamps.

### **6.3 Extracción de ADN**

Una vez que las muestras de carne se descongelaron se aisló el ADN genómico mediante el sistema de purificación de ADN genómico Genelute Mammalian Genomic DNA Cat G1N350, para lo cual se pesaron 40 mg de carne magra sin tejido conectivo y se maceraron en tubos tipo Eppendorf de 1.5 ml, añadiendo 180 µl de solución de lisis T (B6678) y 20 µl de proteinasa K, y se mezcló al vortex por 15 seg. Posteriormente, se



incubó a 55°C/3h hasta observar que estuviera completamente lisado el tejido, a continuación se adicionaron 200 µl de solución de lisis C (B8803), mezclando al vortex e incubando a 70°C/10 min. Una vez transcurrido el tiempo se le agregó 20 µl de RNAsa y se dejó reposar a temperatura ambiente. Después se le adicionó 500 µl de de solución de preparación de la columna a la misma y se centrifugó a 12,000 rpm/1 min, descartando la fase líquida y dejando el material decantado. A continuación se agregaron 200 µl de etanol al 100% al lisado y se llevó al vortex por 20 seg. Se transfirió a la columna el lisado más el etanol del paso anterior y se llevó a centrifugar a 6,500 rpm/1min. La columna se transfirió a un tubo nuevo y se adicionó 500 µl de solución de lavado y se centrifugó a 6500 rpm/1min, a temperatura ambiente. Nuevamente se transfirió la columna a un tubo nuevo, adicionando 500 µl de solución de lavado y se centrifugó a 12,000 rpm/3min para secar la columna. Por último, se transfirió la columna a otro tubo nuevo y se agregaron 80 µl de solución de elusión y se dejó a temperatura ambiente 5 minutos para centrifugar a 6,500 rpm/1min. Las muestras fueron almacenadas en criocajas a 4°C para ser utilizadas como banco de ADN genómico.

Posterior a la extracción, se efectuó la medición de la concentración y pureza del ADN obtenido de cada muestra mediante espectrofotometría, que consiste en medir la densidad óptica, permitiendo estimar la concentración de ADN a través de un fotodocumentador de luz UV (Kodak Gel Logic 112/GL212 utilizando el paquete computacional Kodak Molecular Imaging Standard Edition). Los valores de concentración se capturaron en una base de datos y fueron ajustados a 50ng/µl

## **6.4 Análisis de los polimorfismos**

### **6.4.1 Marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1**

Los genotipos de los marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 se obtuvieron utilizando un ensayo de discriminación alélica en las condiciones estandarizadas por Parra *et al.* (2007) empleando el equipo ABI Prism® 7000<sup>1</sup>. Los iniciadores y sondas necesarios fueron sintetizados por la compañía Applied Biosystems tomando como base las secuencias reportadas en el GeneBank. Se utilizaron 125 ng de

---

<sup>1</sup> Real-Time Sequence Detection Software

ADN, 12.5 µl de Taqman PCR Master mix<sup>2</sup> y 0.625 µl de la mezcla de las sondas e iniciadores para cada marcador utilizado (Assay SNP mix) y se empleó agua MiliQ como control negativo en tres pozos de cada placa. Al final de la PCR-RT los genotipos fueron asignados de acuerdo a la fluorescencia predominante VIC, FAM (homocigotos) o ambas señales (heterocigotos).

**Cuadro 3. Secuencias de iniciadores y sondas para los marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1**

Marcador	Iniciadores	Sonda
CAPN1 316	F-GCAGTGCCGTTTTCTACAG	VIC:ATGGAACGGCGTGGAC
	R- AGCTGCTCCCGCATGTAAG	FAM:ATGGAACGCCGTGGAC
CAPN1 4751	F-TGGCATCCTCCCCTTGACT	VIC:CGCCTCAGTTTTTC
	R-CCCCGTCACCTTGACACA	FAM:CGCCTCGGTTTTTC
CAST T1	F-CTCACGTGTTCTTCAGTGTCTG	VIC: CCTTTCCTCTTAGACTTGT
	R-CAACCCAAAGAAACATCAAACACAGT	FAM:CTTTCCTCTTGGACTTGT

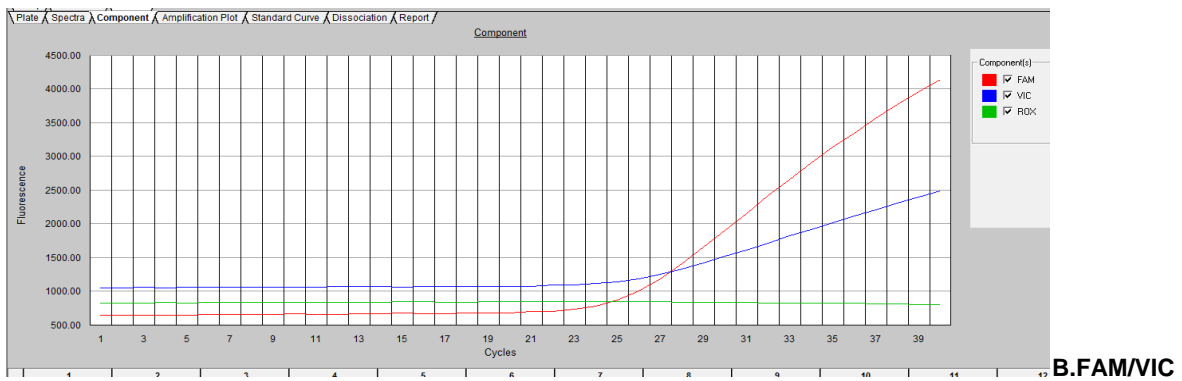
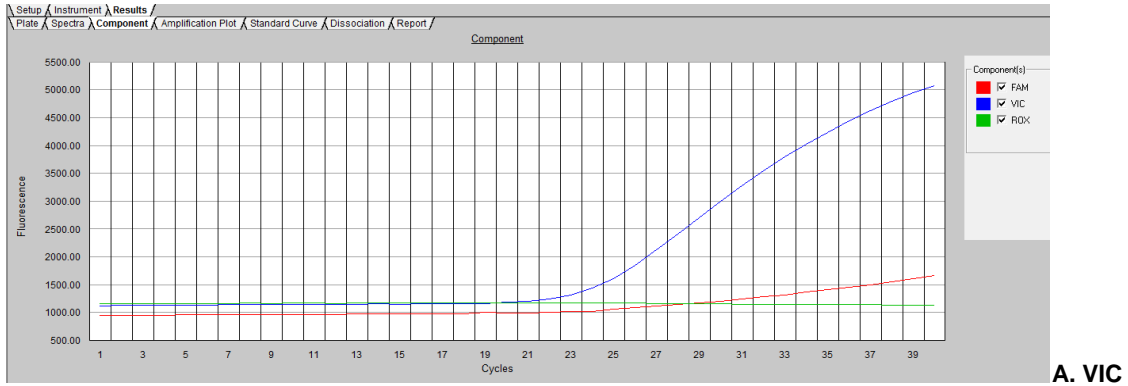
F: Forward, R: Reverse

Cada ensayo se realizó de manera individual en placas ópticas de 96 pozos en el equipo ABI Prism® 7000<sup>3</sup> bajo los siguientes parámetros: un ciclo a 50°C/2min y 95°C/10min, 40 ciclos de dos pasos 92°C/15seg y 60°C/1min. Los resultados se visualizaron en una pantalla en la cual cada curva corresponde a un fluoróforo. Al finalizar la PCR-RT se asignaron los genotipos de acuerdo al porcentaje de la fluorescencia, VIC (homocigotos CAPN1 316GG, CAPN14751TT y CAST T1GG) FAM (homocigotos CAPN1 316CC, CAPN1 4751CC y CAST T1 AA) o ambas señales (heterocigotos CAPN1 316 GC, CAPN1 4751TC y CAST T1 GA).

En las siguientes figuras se muestran las curvas de fluorescencia para la identificación de los polimorfismos de los marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 por discriminación alélica.

<sup>2</sup> Applied Biosystems

<sup>3</sup> Real-Time Sequence Detection Software



**Figura 4. Curvas de fluorescencia.** A: Curva del fluoróforo VIC (azul) que indica la ausencia de la variante alélica favorable de cada marcador y que representa a los homocigotos normales. B: Indica a los individuos heterocigotos representados por las curvas de los fluoróforos FAM (color rojo) y VIC (color azul). En ambos esquemas se presenta una tercera línea (color verde), que representa al fluoróforo ROX utilizado como testigo.

#### 6.4.2 Identificación de los marcadores TG5, GH/Alu y Lep por PCR-RFLP

La identificación de las variantes alélicas de los marcadores TG5, GH/Alu y Leptina se realizó a mediante la técnica de PCR-RFLP, utilizando las secuencias de los iniciadores del cuadro 4.

**Cuadro 4. Secuencias de iniciadores de los marcadores TG5, GH/Alu y Leptina**

<b>Gen/Marcador</b>	<b>Secuencias iniciadores (5´-3´)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Tiroglobulina/ TG-5</b>	TG5U-GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA TG5D-GGGGATGACTACTACGAGTATGACTG	<b>Barendse <i>et al.</i>, 2004</b>
<b>GH/ GHA/ul</b>	5TAGGGGAGGGTGGAAAATGGA-3 3`GACACCTACTCAGACAATGCCG-5`	<b>Sorensen, 2002</b>
<b>Leptina/ Lep2</b>	5ATGCGCTGTGGACCCCTGTATC-3 3`GAGGGTTTTGGTGCATCCTGGACCCTGC-5`	<b>Kononof <i>et al.</i>, 2005</b>

Las reacciones de PCR se realizaron con el programa de amplificación basado en la técnica de “Touch Down” (McPherson y Moller, 2000) utilizando las condiciones indicadas en los cuadros 5, 6 y 7.

**Cuadro 5. PCR-RFLP para la identificación de los SNP del marcador TG5**

<b>Reactivo</b>	<b>Volumen por reacción (µl)</b>
ADN	4
Buffer 5x (50 mM Tris)	2.5
mgCl <sub>2</sub>	1.5
dNTP´s	0.25
Iniciador 5TGD1	0.25
Iniciador 3TGU2	0.25
Taq ADN polimerasa	0.0625
Agua estéril	3.687
Volumen total	12.5

**Cuadro 6. PCR para la amplificación del marcador GH/A/ul**

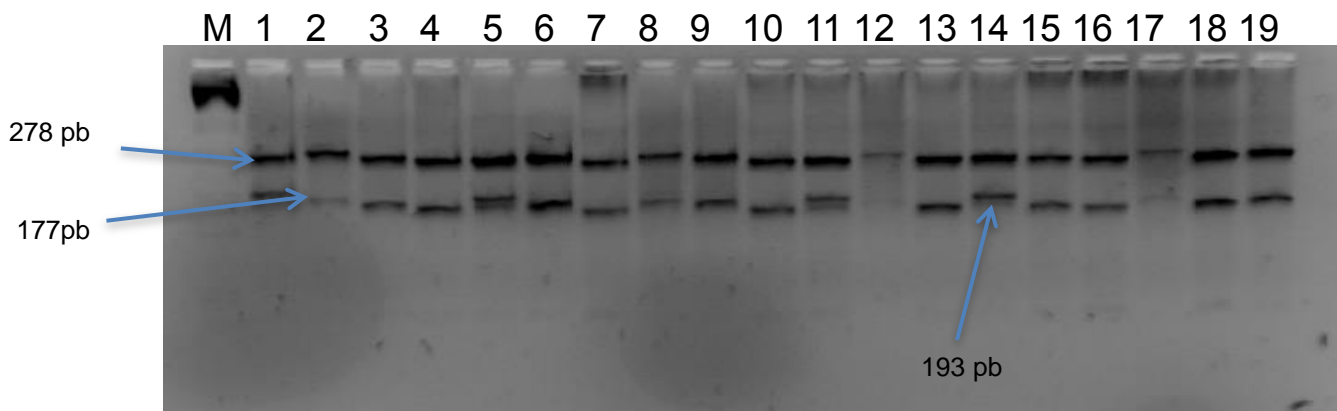
<b>Reactivo</b>	<b>Volumen por reacción (µl)</b>
ADN	2
Buffer 5x (50 mM Tris)	2.5
MgCl <sub>2</sub>	1.5
dNTP's	0.25
Iniciador Fw	1.25
Iniciador Rw	1.25
Taq ADN polimerasa	0.05
Agua estéril	3.7
Volumen total	12.5

**Cuadro 7. PCR-RFLP para el marcador LEP**

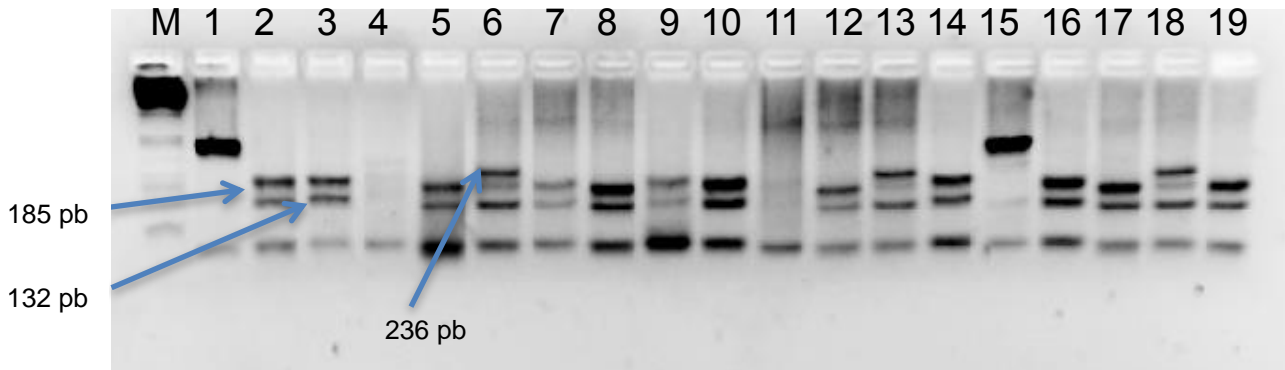
<b>Reactivo</b>	<b>Volumen por reacción (µl)</b>
ADN	1
Buffer 5x (50 mM Tris)	2.5
MgCl <sub>2</sub>	0.75
dNTP's	0.25
Iniciador Fw	1.25
Iniciador Rw	1.25
Taq ADN polimerasa	0.025
Agua estéril	5.475
Volumen total	12.5

Una vez obtenidos los productos de PCR se sometieron al proceso de digestión con las enzimas de restricción *Mbol* para el marcador TG5, *Alul* para el marcador GH y *PstI* para el marcador Leptina, en cada uno de los casos se utilizó 5U de cada enzima y posteriormente se incubaron a 37°C durante 8h en el termociclador con el programa Dige-digest.

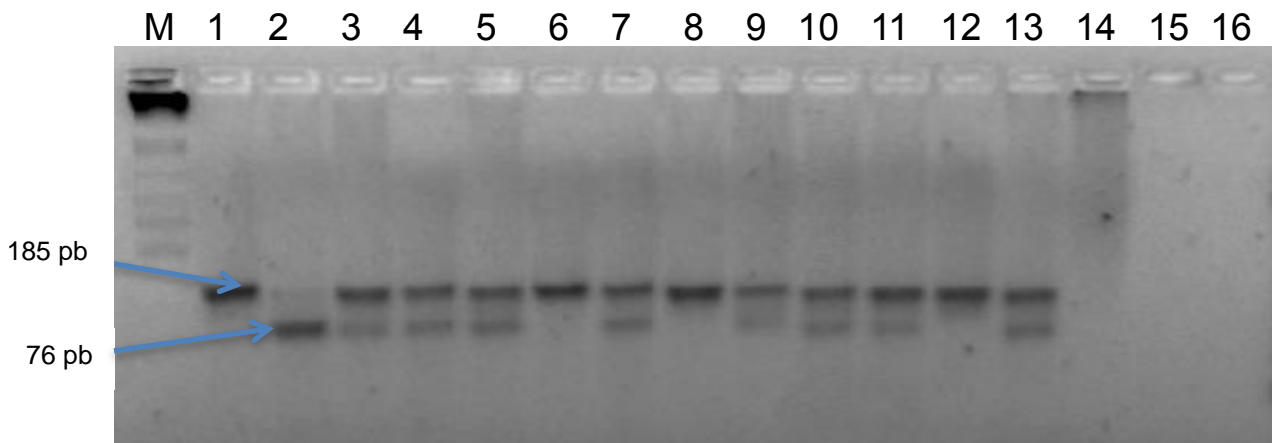
Los patrones de digestión obtenidos para el marcador TG5 se muestran en la figura 4, los correspondientes al marcador GH/*Alul* se muestran en la figura 5 y para el marcador Lep en la figura 6.



**Figura 5. Imagen de los fragmentos digeridos de TG5 con la enzima de restricción *Mbol*.** Electroforesis en gel Nusieve al 4.5% en donde se muestra el marcador  $\lambda PstI$  (M). En el carril 1 se observa un individuo homocigoto TT (muestra bandas de 278 pb y 193 pb); carriles 2, 3, 4, 6 son individuos homocigotos CC (muestran la banda de 278 y 177 pb); carriles 5, 11 y 14 son animales heterocigotos CT (presentan las bandas de 278, 193 y 177 pb).



**Figura 6. Imagen de los fragmentos digeridos de GH con la enzima de restricción *AluI*.** Electroforesis en gel Agarosa al 2.5% en donde se muestra el marcador  $\lambda PstI$  (M). En el carril 1 se observa una muestra de PCR sin digerir, en los carriles 2, 3 y 5 se observan individuos con genotipo CC (bandas de 185 y 132 pb), en los carriles 6, 13 y 18 se muestran individuos heterocigotos CG (bandas 236, 185 y 132 pb).



**Figura 7. Imagen de los fragmentos digeridos de LEP con la enzima *PstI*.** En el carril 2 se encuentra un individuo homocigoto TT, carriles 3, 4, 5 y 7 representan individuos con genotipo heterocigoto CT y en los carriles 6, 8 y 12 se muestran individuos con genotipo CC.

## 6.5 Análisis estadísticos

### 6.5.1 Cálculo de frecuencias genotípicas y alélicas

La población estudiada se dividió de acuerdo al tipo racial en tres grupos: *Bos taurus*, *Bos taurus/Bos indicus* y *Bos indicus*.

Las frecuencias genotípicas y alélicas para cada marcador analizado (CAPN1 316, CAPN1 4751, CAST T1, TG5, LEP y GH/*AluI*) fueron estimadas utilizando el programa Genepop versión 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995). El análisis de frecuencias genotípicas se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrada o exacta de Fisher. Se realizó un análisis de correspondencia mediante el programa CORRESP de SAS 9.3 (SAS institute Inc Cary N.C), para determinar la distribución alélica de los marcadores entre los grupos raciales estudiados.

### 6.5.2 Análisis de asociación

Se realizó un análisis de asociación entre las variables suavidad y marmoleo y los genotipos de los marcadores moleculares identificados utilizando un análisis lineal general. Fueron estimadas las medias de mínimos cuadrados de cada variable y se realizó la prueba de comparación de medias para las variables y valores significativos ( $P < 0.05$ ), utilizando el paquete estadístico SAS 9.3 (SAS Institute Inc. Cary N.C.) ajustando el siguiente modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + GG_i + EEG_j + DEG_k + SX_l + L_m + \epsilon_{ijklm}$$

Donde:

Y= la variable dependiente (Suavidad, Marmoleo, Merma, Area del ojo de la Chuleta, Grosor de la grasa)

$\mu$ = media general

GG= efecto del *i*-ésimo grupo genético (*Bos taurus*, *B. taurus/ B. indicus*, *Bos indicus*)

EEG= efecto de la *j*-ésima edad (<18 meses, 18-26 meses y >26 meses)

DEG= efecto del *k*-ésimo tiempo de finalización (<100 días, 100-150 días y >150 días)



SX= efecto del  $l$ -ésimo sexo (macho entero, hembras)

L= efecto del  $m$ -ésimo genotipo del *locus* (*CAPN1 316*, *CAPN1 4751*, *TG5*, *CAST T1*, *LEP*, *GH/Alu*)

$\varepsilon$ = error aleatorio asociado al muestreo

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Frecuencias genotípicas y alélicas de CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1

Se analizaron los marcadores CAPN1 316 y CAPN1 4751 del gen Calpaína, los cuales han sido previamente reportados por su asociación con la suavidad de la carne bovina de las razas *Bos taurus*, *Bos indicus* y sus cruces (Buchanan *et al.*, 2002; Casas *et al.*, 2006; Page *et al.*, 2002; White *et al.*, 2005). La presencia del alelo C (Citosina) ya sea en forma homocigótica o heterocigótica en ambos marcadores, ha demostrado que disminuye la Fuerza de Corte en el músculo *Longissimus dorsi* (Page *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005).

En el presente trabajo las frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAPN1 316 se pueden observar el cuadro 8.

**Cuadro 8. Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAPN1 316 de acuerdo al grupo racial**

Grupo racial	Genotipo	n	Frecuencia Genotípica (%)	Frecuencia Alélica (%)
<i>Bos taurus</i>	CC	0	0	*C= 20
	CG	13	39.4	G= 80
	GG	20	60.6	
<i>B. taurus/ B. indicus</i>	CC	4	3.1	*C= 12.9
	CG	25	19.5	G= 87.1
	GG	99	77.4	
<i>Bos indicus</i>	CC	0	0	*C= 11
	CG	4	22.2	G= 89
	GG	14	77.8	

\* Alelo teóricamente favorable

En toda la población estudiada la frecuencia del alelo G para el marcador CAPN1 316 fue mayor que la del alelo C, favorable para la característica de suavidad de la carne. El alelo C mostró una limitada segregación, presentándose casi exclusivamente en combinación heterocigótica, el genotipo CC se encontró únicamente en el grupo racial *Bos taurus/ Bos indicus* con una frecuencia genotípica del 3.1 %, sin embargo, el grupo que mostró una mayor frecuencia de heterocigotos (CG) fue el grupo *Bos taurus* con 39.4%, el cual a su vez presentó una frecuencia alélica C= 20%.

Al respecto, en una población de 303 individuos de la raza Angus Argentino, Guitou *et al.* (2008), encontraron una frecuencia del 29% para el alelo C del marcador CAPN1 316. White *et al.* (2005) obtuvieron frecuencias de 5.18, 36.89 y 57.93 para los genotipos CC, CG y GG, respectivamente, en ganado proveniente de un proyecto que contempló gran variedad de razas entre las que se encontraban Brangus, Beefmaster, Bonsmara, Romosinuano, Hereford y Angus.

En otro estudio, Smith *et al.* (2009) evaluaron una población Brahman (n=467), en la cual reportaron una frecuencia del 3.1% para el alelo C, donde únicamente éste alelo se presentó en forma heterocigótica CG= 6.3%, destacando el genotipo GG con una frecuencia del 93.7%. Casas *et al.* (2005) reportaron frecuencias genotípicas para los SNP CC, CG y GG de 0, 2.6 y 97.4% respectivamente, en ganado *Bos indicus*. Curi *et al.* (2010), estudiaron las frecuencias alélicas y genotípicas del marcador 316 en diferentes grupos genéticos con diferentes porcentajes de inclusión *Bos indicus*, *Bos taurus* y sus cruzas, obteniendo un promedio en la frecuencia del alelo C del 6%, siendo la población Brangus, la que obtuvo una mayor frecuencia para este alelo C=21%. Cabe mencionar que en ninguna de las razas estudiadas se presentó el genotipo CC. Se determinó que el alelo G se mantuvo fijo en el grupo de animales Rubia Gallega x Nellore, con el 100% de los animales como homocigotos GG. Diversos autores (Morris *et al.*, 2006; Page *et al.*, 2004; Van Eenennaam *et al.*, 2007) han reportado que el alelo C se presenta con menor frecuencia que el alelo G, tanto en el género *Bos taurus* como en el *Bos indicus*, con la diferencia que la frecuencia del alelo C es mayor en los *Bos taurus*, lo cual coincidió con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Bonilla *et al.* (2010) analizaron las frecuencias genotípicas y alélicas del marcador 316 en poblaciones bovinas comerciales mexicanas de diferentes zonas geográficas y no encontraron animales homocigotos CC, por lo que el alelo C favorable a suavidad, se presentó únicamente en su variante heterocigótica. En otro estudio realizado en el noreste de México, Muñoz (2009) obtuvo una frecuencia del 18% para el alelo C, en ganado Charolais, también, sin presencia de animales CC, lo que coincide con los datos reportados por Parra-Bracamonte *et al.* (2009) cuyas frecuencias génicas fueron C=15% y G=85% en poblaciones de animales Charolais, donde sugiere que las diferencias entre las frecuencias genotípicas y alélicas pueden estar asociadas al historial de manejo genético al que éstas han sido sometidas, como indican en algunos casos, las desviaciones del

equilibrio Hardy-Weimberg, específicamente la migración, que consiste en el intercambio de individuos reproductores entre poblaciones distintas, por lo tanto, es una fuerza direccional de las frecuencias génicas.

Las bajas frecuencias reportadas en el presente trabajo, para el alelo C del marcador CAPN1 316 favorable a suavidad de la carne, pueden explicarse por el hecho de que en México, la carne que se comercializa proviene de animales que aún no son seleccionados para cubrir aspectos de calidad tan importantes como lo es la suavidad de la carne y al desconocimiento del origen racial de los animales empleados para la producción de carne.

Al igual que el marcador CAPN1 316, el marcador CAPN1 4751 se ha relacionado con la suavidad en poblaciones *Bos taurus*, *Bos indicus* y sus cruzas. El genotipo CC se asocia con la disminución de los valores de Fuerza de Corte y por lo tanto mejora la suavidad en la carne, a diferencia de los genotipos CT y TT (White *et al.*, 2005).

En el cuadro 9 se pueden observar las frecuencias genotípicas y alélicas del marcador CAPN1 4751 en cada grupo genético.

**Cuadro 9. Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAPN1 4751 de acuerdo al grupo racial**

Grupo racial	Genotipo	N	Frecuencia Genotípica (%)	Frecuencia Alélica (%)
<i>Bos taurus</i>	CC	3	9.1	*C= 39
	CT	20	60.6	T= 61
	TT	10	30.3	
<i>B. taurus/ B. indicus</i>	CC	18	12.5	*C= 34
	CT	61	42.4	T= 66
	TT	65	45.1	
<i>Bos indicus</i>	CC	4	22.2	*C= 42
	CT	7	38.9	T= 58
	TT	7	38.9	

\* Alelo teóricamente favorable

La tipificación de los genotipos del marcador CAPN1 4751 indicó una elevada frecuencia de animales heterocigotos en los tres grupos evaluados, siendo los animales del tipo europeo los que prevalecieron dentro de este rango. En cambio, el genotipo CC se presentó en mayor frecuencia en los animales clasificados como *Bos indicus*. En un

estudio previo, Muñoz (2009) reportó en ganado Charolais del noroeste mexicano, resultados similares a los obtenidos en este estudio, donde atribuyen las frecuencias obtenidas al manejo particular de los hatos estudiados en los que básicamente los animales se seleccionan para características de crecimiento y no de calidad.

El alelo C favorable para la suavidad de la carne se encontró presente en todos los grupos raciales, mostrando una mejor segregación a diferencia del marcador CAPN1 316. White *et al.* (2005) reportaron una frecuencia del 10.8% para el alelo C en una población de ganado Brahman, un 57.5% para una población *Bos taurus* y 63.9% para animales de cruce *Bos taurus* x *Bos indicus*. Van Eenenaam *et al.* (2007) estudiaron una población en la que incluyeron razas europeas, Brangus y Brahman obteniendo frecuencias para el alelo favorable (C) en un rango de 6 al 55%, siendo la raza Brahman la que presentó la menor frecuencia y la Brangus el mayor porcentaje del alelo C.

Pinto *et al.* (2010) reportaron una frecuencia alélica de 18% para el alelo C del marcador CAPN1 4751 y para los homocigotos CC=32%, en un estudio en el que evaluaron ganado Nelore brasileño. Los resultados arriba mencionados difieren a lo encontrado en el presente estudio, ya que el grupo con mayor influencia *Bos indicus* presentó las mayores frecuencias del alelo favorable para la suavidad de la carne.

Así mismo, Bonilla *et al.* (2010) encontraron una alta frecuencia del alelo C (49%) para el marcador CAPN1 4751 en muestras de carne provenientes de diferentes ciudades del país, de las cuales, el 26% fueron homocigotos CC y el 46% heterocigotos. Una característica de ese estudio consistió en que se desconocía el origen racial de los animales estudiados, por lo tanto, solo se puede comparar con resultados de frecuencias alélicas y genotípicas.

Parra-Bracamonte (2009) reportó en una población de ganado Brahman mexicano, 49% para el alelo C, donde el 99% de los genotipos fueron heterocigotos.

Las diferencias en las frecuencias alélicas reportadas en el presente estudio, con respecto a lo reportado por la literatura, podrían estar relacionadas con la variabilidad de las razas que se comercializan a lo largo del país y al limitado manejo orientado a mejorar las características de la carne en las poblaciones animales.

En el caso del marcador CAST T1, el alelo A derivado de la sustitución de Guanina por Adenina, se asocia a carne más suave (Barendse, 2002). La calpastatina es una enzima que interviene en la regulación de la actividad de la calpaína mediante la inhibición de su efecto cuando el proceso de maduración se ha completado en presencia de calcio una molécula de calpastatina puede inhibir 4 moléculas de calpaína.

La distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas en los diferentes grupos raciales evaluados se muestran en el cuadro 10.

**Cuadro 10. Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador CAST T1 de acuerdo al grupo racial**

Grupo racial	Genotipo	N	Frecuencia Genotípica (%)	Frecuencia Alélica (%)
<i>Bos taurus</i>	AA	7	53.1	*A=72
	GA	12	37.5	G=28
	GG	3	9.4	
<i>B. taurus/ B. indicus</i>	AA	76	52.8	*A=72
	GA	55	38.2	G=28
	GG	13	9.0	
<i>Bos indicus</i>	AA	10	55.5	*A=75
	GA	7	38.9	G=25
	GG	1	5.6	

\* Alelo teóricamente favorable

El alelo favorable (A) para la suavidad de la carne, resultó ser el que se presentó en una mayor frecuencia en toda la población, en comparación con el alelo normal (G). Se observa que la distribución del alelo favorable se encuentra homogénea en cada uno de los grupos genéticos, lo que contrasta con lo reportado por otros autores (Morris *et al.*, 2006; Van Eenennaam *et al.*, 2007), quienes indican que las razas del género *Bos indicus*, presentan menores frecuencias del alelo A en comparación con las razas *Bos taurus* y sus cruza, lo que influye en la presentación de una carne más dura. Lo que nos indica, que para esta población, el marcador CAST T1 no es de utilidad como marcador genético puesto que no predice la variabilidad en la suavidad de la carne.

Sin embargo, los resultados reportados en este trabajo concuerdan con lo descrito por Curi *et al.* (2009) quienes evaluaron diferentes razas *Bos indicus* y sus cruza y obtuvieron frecuencias alélicas con rangos que van de 63 al 87% para el alelo A del gen

de la calpastatina. Al respecto, Casas *et al.* (2006) reportaron una frecuencia del Alelo A en cruces de animales de la raza Brahman de 72%, 80% en ganado *Bos taurus* y 83% en animales *Bos taurus* x *Bos indicus*.

En otro estudio, realizado en novillos de distintas razas *Bos taurus*, Morris *et al.* (2006) reportaron altas frecuencias del alelo A con rangos desde 84 al 99%, encontrando que los individuos con genotipo AA presentaban una carne más suave al evaluar la Fuerza de Corte, lo que concuerda con Wheeler *et al.* (1994) quienes en su trabajo determinaron que los ejemplares *Bos taurus* producen una carne más suave, comparados con animales *Bos indicus* y *Bos taurus* x *Bos indicus* al presentar el alelo favorable.

### 7.1.2 Análisis de correspondencia

El análisis de correspondencia se realizó para determinar la segregación de los alelos que influyen sobre la suavidad de la carne, entre los grupos raciales estudiados y se muestra en la figura 7.

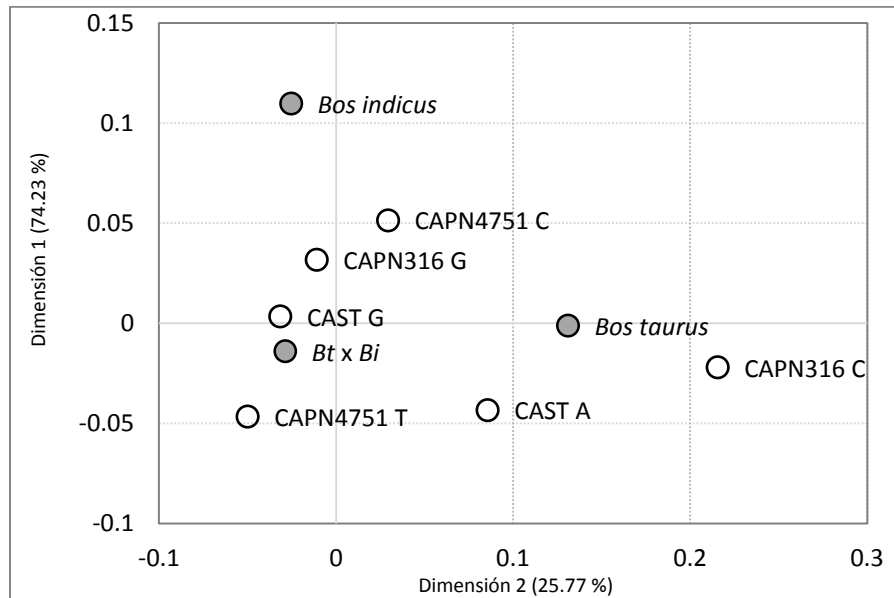


Figura 8. Análisis de correspondencia de los marcadores CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1 de acuerdo al grupo racial.

En esta figura se observa que existe una asociación significativa ( $P < 0.05$ ) de los alelos C y A de los marcadores CAPN 316 y CAST T1 con el género *Bos taurus*, de esta misma forma, los alelos G, T y G de los loci CAST T1, CAPN 4751 y CAPN1 316 se

agruparon en el genotipo *B. taurus/B. indicus*. Los demás alelos se agrupan sin ningún patrón específico.

Esto se debe, probablemente, a que en el estrato productor multiplicador no existe un control en la generación de un patrón animal específico para el mercado, por lo que la frecuencia de aquellos marcadores que se atribuyen con mayor frecuencia al trasfondo racial *Bos taurus* o *Bos indicus*, se diluyen por efecto del entrecruzamiento, lo que sugiere que en condiciones de producción comercial de carne, el uso de estos marcadores moleculares como indicadores de clasificación con base en la segregación alélica y el trasfondo genético no es recomendable. Esto no excluye el hecho de que algunos de estos marcadores aún posean un efecto significativo sobre algunos caracteres productivos para los que son candidatos.

### **7.1.3 Frecuencias genotípicas y alélicas de los marcadores TG5, LEP y GH/AluI**

El marmoleo representa la cantidad de grasa infiltrada dentro de la carne, siendo el principal parámetro determinante en los grados de calidad al momento en que las canales son evaluadas en diversos sistemas de evaluación de canales en general en los distintos países. Estudios previos (Barendse *et al.*, 1999 y 2004; Smith *et al.*, 2004; Casas *et al.*, 2007) han demostrado la asociación del TG5 con el marmoleo. Según lo descrito por Barendse *et al.* (2004), el genotipo TT es el favorable para una mayor infiltración de marmoleo, en comparación con los homocigotos CC y los que portan sólo una copia de este alelo CT.

En este trabajo se analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen TG5 y se presentan en el cuadro 11.



**Cuadro 11. Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador TG5 de acuerdo con el grupo racial**

Grupo racial	Genotipo	n	Frecuencia Genotípica (%)	Frecuencia Alélica (%)
<i>Bos taurus</i>	TT	1	3	*T=17
	CT	9	28	C=83
	CC	22	69	
<i>B. taurus/ B. indicus</i>	TT	7	5.0	*T=10
	CT	13	9.3	C=90
	CC	120	85.7	
<i>Bos indicus</i>	TT	1	5.6	*T=06
	CT	0	0	C=94
	CC	17	94.4	

\* Alelo teóricamente favorable

Se observa que el alelo favorable (T) se encuentra pobremente distribuido en los grupos *Bos taurus*, *B. taurus/B. indicus* y *B indicus*, respectivamente, prevaleciendo el alelo normal (C) en un intervalo del 83 al 94%. Vale la pena mencionar que el grupo con mayor frecuencia de animales con al menos una copia del alelo T fueron los del género *Bos taurus* con 28%. Los resultados obtenidos probablemente reflejan que la producción de carne en ciertas zonas de México aún se encuentra orientada hacia aumentar el volumen de carne, sin hacer énfasis sobre la calidad de la misma, esto debido, fundamentalmente, a que un gran número de la población demanda carne totalmente desgrasada.

Barendse *et al.* (2004) encontraron el genotipo TT en 3.7%, lo que concuerda con el presente estudio, describiendo que normalmente el genotipo TT se encuentra con baja frecuencia a diferencia del genotipo normal CC (66%).

Smith *et al.* (2004) confirmaron la alta frecuencia del alelo T en animales de la raza japonesa Waiyu, caracterizada por su importante infiltración de grasa intramuscular, una frecuencia moderada en poblaciones *B. taurus* y una baja frecuencia en animales *B. indicus*; indicando que este alelo se mantiene fijo o en mayor proporción, en aquellas razas que presentan un mayor grado de marmoleo (Casas *et al.*, 2007). Bonilla (2008) analizó las frecuencias de este SNP en poblaciones comerciales de ganado bovino mexicano, y encontró la presencia de dos genotipos, CC y CT, correspondientes al

genotipo homocigoto con dos copias del alelo normal y al genotipo con una copia del alelo normal y otra del mutado. La frecuencia del alelo favorable (T) se encontró en un 10% con 26% de animales portadores. Dicho estudio también incluyó el análisis de asociación que corroboró la asociación del marcador TG5 con el marmoleo cuantificado como extracto etéreo, en cortes de canal de los animales muestreados, encontrándose que la presencia del alelo T aumenta significativamente la grasa intramuscular de 4.4 a 6.6%.

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se sugiere que a medida que aumenten las frecuencias del alelo T en las poblaciones de bovinos en México, a través de programas de mejoramiento basados en la estimación de valores genéticos y al uso de la Selección Asistida por Marcadores (SAM) se verá reflejado en un aumento en la calidad de la carne. Aunado al reconocimiento por parte de los ganaderos nacionales de un cambio en algunos sectores de la población que demandan productos cárnicos de mejor calidad y de la consecuente implementación de técnicas de manejo para este propósito.

A continuación se observa la distribución de las frecuencias del marcador Leptina en los diferentes grupos raciales evaluados.

**Cuadro 12. Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador Lep de acuerdo con el grupo racial**

Grupo racial	Genotipo	n	Frecuencia Genotípica (%)	Frecuencia Alélica (%)
<i>Bos taurus</i>	TT	0	0	*T= 21
	CT	14	42.4	C= 79
	CC	19	57.6	
<i>B. taurus/ B. indicus</i>	TT	16	12	*T= 28
	CT	42	31.6	C= 72
	CC	75	56.4	
<i>Bos indicus</i>	TT	2	11.1	*T= 36
	CT	9	50	C= 64
	CC	7	38.9	

\* Alelo teóricamente favorable

La distribución de las frecuencias de los polimorfismos del gen, mostraron que el genotipo TT que predispone a infiltrar grasa se encontró en mayor frecuencia en el grupo

racial *B. taurus/B. indicus* y no se presentó en los animales *Bos taurus* sino que prevaleció en su forma heterocigota.

La frecuencia del alelo T en el grupo *Bos indicus* fue la más alta en comparación con los demás grupos raciales, lo que difiere con lo reportado por Buchanan *et al.*, (2002) quienes obtuvieron frecuencias alélicas de 58% en ganado Angus, 34% en Charolais y 55% en animales Hereford, además de una asociación significativa del alelo T con la presentación de canales más engrasadas. Al respecto, Kononoff *et al.* (2005) en un estudio realizado en una población de cruza de ganado europeo, indicaron frecuencias alélicas de aproximadamente 50% para cada alelo. La diferencia entre dichos estudios y el presente trabajo se deben, muy probablemente, al origen racial de cada población. Montoya *et al.* (2009) reportaron frecuencias para el alelo T de 66 y 53% en razas criollas colombianas (Sanmartinero y Romosinuano, respectivamente).

Estudios recientes demuestran que el genotipo favorable TT presenta mejores resultados con respecto a los animales que presentan genotipo CC y CT, en consumo de alimento, composición de la canal, grosor de la grasa dorsal y marmoleo (Buchanan *et al.*, 2002; Cerón-Muñoz *et al.*, 2009; Chillard *et al.*, 2005).

Dadas las diferentes condiciones de producción de la ganadería en México, se requieren más estudios que evalúen éstos y otros indicadores de la eficiencia productiva para las diferentes razas y así determinar la frecuencia deseada y el mejor genotipo para obtener la característica que se desea explotar.

Para el caso del marcador GH/*AluI*, la presencia del alelo C corresponde a una transversión de C/G en la posición nucleotídica 2141 del exón 5 en el que se sustituye una valina (G) por el aminoácido leucina (alelo C) en la posición aminoacídica 127 del gen GH (Yao *et al.*, 1996). Se ha reportado que los polimorfismos del gen GH se asocian a rasgos productivos como aumento en la concentración de GH en plasma, marmoleo y acumulación de grasa en la grupa.

Las frecuencias alélicas observadas en este estudio, están reportadas en el siguiente cuadro.

**Cuadro 13. Frecuencias alélicas y genotípicas del marcador GH/Alul de acuerdo con el grupo racial**

Grupo racial	Genotipo	n	Frecuencia Genotípica (%)	Frecuencia Alélica (%)
<i>Bos taurus</i>	CC	17	53.1	*C= 69
	CG	10	31.3	G= 31
	GG	5	15.6	
<i>B. taurus/ B. indicus</i>	CC	100	77.5	*C=86
	CG	21	16.3	G=14
	GG	8	6.20	
<i>Bos indicus</i>	CC	15	88.2	*C= 94
	CG	2	11.8	G= 6
	GG	0	0	

\* Alelo teóricamente favorable

Claramente se muestra una tendencia hacia el homocigoto CC, con frecuencias del alelo C muy elevadas, lo que puede ser debido a los criterios de selección de animales basados en algún otro fenotipo de interés como lo es, la selección para aumentar la producción de carne, lo cual se ve reflejado en la baja frecuencia del alelo G.

El tipo racial *Bos indicus* presentó la mayor frecuencia alélica favorable con 94%, de los cuales el 88.2% se presentó en forma homocigota.

Este hallazgo concuerda con lo obtenido por Curi *et al.* (2006) quienes reportaron frecuencias de 92.3% para el alelo C en ganado Cebú y sus cruzas, encontrando el alelo C fijo en animales Nellore, presentándose únicamente el genotipo CC en esta raza.

En otro estudio en el que se evaluó una raza europea, Di Stasio *et al.* (2002) reportaron frecuencias del 82% para el alelo C al evaluar ganado de la raza Piedmontese, lo que contrasta con los resultados obtenidos en este trabajo.

En un estudio realizado en México por Meza *et al.* (2010) el que se analizaron el efecto de diferentes polimorfismos en el gen GH sobre parámetros productivos en ganado Charolais, encontraron frecuencias alélicas de 75 y 25% para los alelos C y G, respectivamente, lo que coincidió con reportes existentes en algunas razas de producción de carne: Angus, Shorthorn y Piedmontese, con frecuencias de 61-77, 76 y 72% para el alelo C (Di Stasio *et al.*, 2002; Barendse *et al.*, 2006). En ganado lechero la frecuencia reportada del alelo C varía de 51 a 100% (Yao *et al.*, 1996). En cambio, como ya se

indicó, las frecuencias de las razas cárnicas sí son muy similares aunque sólo en la misma subespecie, puesto que en la raza Brahman la frecuencia del alelo C se ha fijado completamente (Beauchemain *et al.*, 2006).

Las frecuencias alélicas del *locus* GH/*AluI* presentan una gran variación, sin embargo, lo que se puede destacar es la consistencia hacia el alelo C que codifica para el aminoácido leucina en la posición 127 y se ha demostrado que la leucina en dicha posición está asociada a mayores niveles de GH en plasma y por ende a potenciar los efectos de dicha hormona (Sorensen *et al.*, 2002). Esta ventaja es aprovechada por empresas en la producción comercial de la hormona de crecimiento bovina (bGH), es decir, usan la variante leucina.

De esta manera se puede explicar el hallazgo de la alta frecuencia del alelo C debida a la fuerza de selección ejercida sobre parámetros productivos y su implicación indirecta a favor del alelo C. A su vez, la alta frecuencia del alelo C del gen GH en nuestra población limita su uso en programas de selección asistida por marcadores genéticos.

## **7.2 Efecto del grupo racial sobre la Fuerza de Corte**

Dentro de los factores que se deben de considerar como determinantes en la suavidad de la carne, se encuentra la genética de los animales utilizados. Se sabe que el efecto genético controla el 30% de la variación de la suavidad y el 70% restante puede verse afectado por factores ambientales como el manejo y la alimentación de los animales (White *et al.*, 2005).

Como ya se mencionó previamente, la población bovina estudiada se clasificó de acuerdo con el grupo racial como *Bos taurus*, *Bos taurus/Bos indicus* y *Bos indicus* y el análisis de asociación con respecto a la suavidad de la carne se presenta en la figura 8.

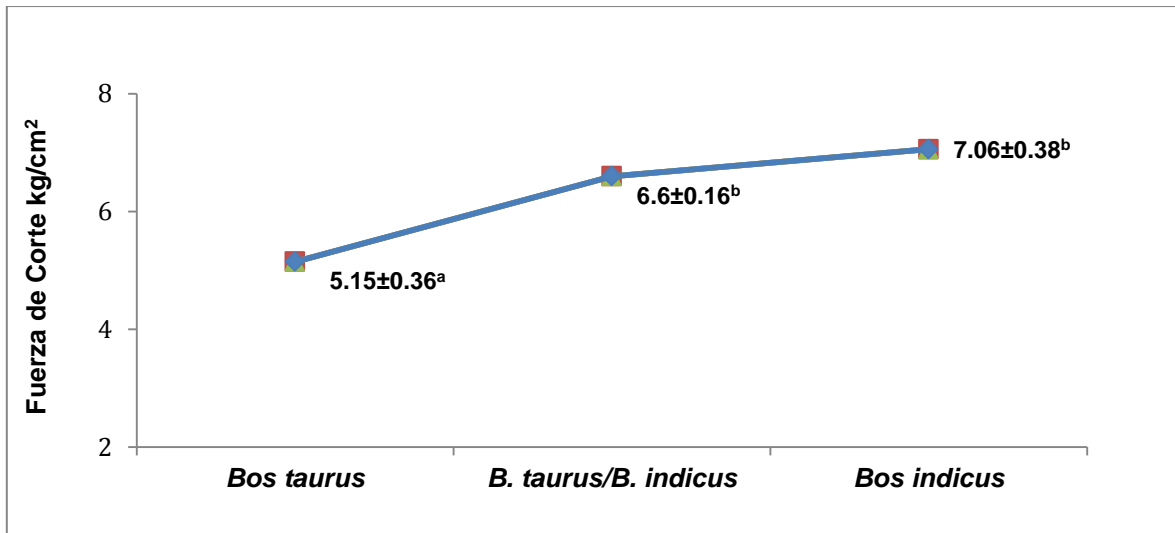


Figura 9. Análisis de comparación de las medias de mínimos cuadrados de acuerdo con el grupo racial sobre la Fuerza de Corte (kg/cm<sup>2</sup>).

<sup>a,b</sup> Literales diferentes indican diferencia significativa P<0.05

En la cual (Figura 8) se muestra que el grupo racial *Bos taurus* presentó menores valores de Fuerza de Corte con respecto a los otros dos grupos (P<0.05), lo que indica que a mayor influencia de *Bos indicus* la suavidad disminuye, lo cual concuerda con lo reportado por la literatura. En un estudio, realizado por Wheeler *et al.* (1994) se evaluaron novillos *Bos taurus* y *Bos indicus* y encontraron que la medición de la Fuerza de Corte a través de la cuchilla Warner Bratzler, disminuía a medida que la infiltración de grasa intramuscular cambiaba de “trazas” a “pequeñas” cantidades.

Estudios previos (Whipple *et al.*, 1990; Shackelford *et al.*, 1994) sugieren que las diferencias genéticas asociadas a la suavidad de la carne se deben a variaciones en la tasa de proteólisis muscular *post mortem* que ocurre durante el almacenamiento de la carne.

Los valores de Fuerza de Corte en este estudio, posicionan a la carne mexicana como carne dura de acuerdo a los criterios de Belew *et al.* (2003) cuya escala es: <3.2 kg/cm<sup>2</sup> catalogada como carne muy suave; de 3.2 a 3.9 kg/cm<sup>2</sup> es suave; <3.9 a 4.6 kg/cm<sup>2</sup> se considera intermedia y >4.6 kg/cm<sup>2</sup> es carne dura. Al respecto, Torrescano *et al.* (2003) encontraron valores de Fuerza de Corte de 2.29±0.91 kg/cm<sup>2</sup> de la carne del músculo *Longissimus dorsi lumborum* y 2.24±0.90 kg/cm<sup>2</sup> del *Longissimus dorsi thoracis* de canales provenientes del norte de México, que resultan menores a los encontrados en el presente estudio. Esta diferencia se explica por el efecto del tipo racial ya que en dicho

estudio la carne provenía de animales 100% *Bos taurus* y los sometidos a este análisis, en su mayoría fueron cruza *B. indicus/B. taurus*. Por su parte, González *et al.* (2010) reportaron valores de Fuerza de Corte de 5.62 kg/cm<sup>2</sup> para el músculo *Longissimus dorsi thoracis* en carne mexicana y de acuerdo a la clasificación de Belew *et al.* (2003) también cae en la categoría de carne dura. En el estudio realizado por Méndez *et al.* (2009) en el que se evaluaron la calidad y atributos de rendimiento de las canales que se comercializan en México, encontraron que el 90% de la población de bovinos destinada al consumo humano, presentan algún grado de inclusión genética *Bos indicus* en sus cruza, lo que confirma la importancia de la genética de los individuos seleccionados y su influencia sobre las características de calidad de la canal y de la carne. En otro estudio sobre carne mexicana, Bonilla *et al.* (2010) reportan una media general en los valores de Fuerza de Corte de 4.08±1.35 kg/cm<sup>2</sup> en carne comercial recolectada de centros de autoservicio en diferentes ciudades del país, catalogándose como carne con una suavidad intermedia según lo descrito por Belew *et al.* (2003). Whipple *et al.* (1990) afirman que los animales *Bos indicus* presentan niveles inferiores de marmoleo que los animales *Bos taurus* y que ésta es una de las razones de la dureza de la carne del ganado Cebú. Además, se ha demostrado que los animales acebuados no solo tienen un ritmo de crecimiento más lento, sino que son proclives a producir carne más dura y oscura (Casas, 2007).

Johnson *et al.* (1990) concluyen que los valores de Fuerza de Corte del músculo *Longissimus* incrementan conforme aumenta la inclusión del género *Bos indicus* en las cruza. Este efecto se explica debido a la elevada actividad de la calpastatina (proteína inhibidora del sistema de las calpaínas) del genotipo *Bos indicus*, lo que causa un retardo del ablandamiento natural de la carne durante la maduración *post mortem* (Wheeler *et al.*, 1990; Bidner *et al.*, 2002).

Indudablemente, la variable suavidad está fuertemente afectada por la raza; sin embargo, esta no debe ser una limitante para la crianza y explotación de ciertas razas, ya que el factor madurez tiene aún mas efecto sobre la dureza; es decir, una raza que produce carne con menos suavidad, deberá de alcanzar el peso al sacrificio a una menor edad y para que esto suceda se debe trabajar fuertemente en un sistema de producción que considere un programa manejo integral (Bautista, 2009).

En el cuadro 14 se presenta el efecto de los marcadores involucrados en la suavidad de la carne.

**Cuadro 14. Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la variable Fuerza de Corte (kg/cm<sup>2</sup>) de los marcadores genéticos CAPN1 316, CAPN1 4751 y CAST T1**

<i>Locus</i>	<i>Genotipos</i>					
	<b>GG</b>	<b>n</b>	<b>GC</b>	<b>n</b>	<b>CC*</b>	<b>N</b>
<b>CAPN1 316</b>	6.41±0.20 <sup>b</sup>	133	5.93±0.27 <sup>ab</sup>	42	5.0±0.73 <sup>a</sup>	4
	<hr/>					
<b>CAST T1</b>	<b>GG</b>	<b>n</b>	<b>GA</b>	<b>n</b>	<b>AA*</b>	<b>N</b>
	6.80±0.38	17	6.27±0.23	74	6.10 ±0.21	103
<hr/>						
<b>CAPN1 4751</b>	<b>TT</b>	<b>n</b>	<b>TC</b>	<b>n</b>	<b>CC*</b>	<b>N</b>
	6.46±0.23 <sup>b</sup>	82	6.20±0.22 <sup>ab</sup>	88	5.72±0.32 <sup>a</sup>	25

\*Alelo teóricamente favorable

<sup>a,b</sup> Literales diferentes en la misma línea indican diferencia significativa P<0.05

Aquí se observa que los marcadores que resultaron ser significativos para predecir la suavidad de la carne de bovino, fueron CAPN1 316 y CAPN1 4751 (P<0.05), siendo los genotipos CC los que presentaron menor Fuerza de Corte, a diferencia de los homocigotos TT, cuyos valores eran superiores. La literatura señala que la presencia del alelo C en los marcadores 316 y 4751 del gen CAPN1 es el favorable para la suavidad de la carne, ya que los animales que lo poseen, registran valores de Fuerza de Corte menores a los individuos que presentan el alelo G y T para dichos marcadores.

Se ha descrito que la aparición del polimorfismo CAPN1 4751T/C se generó antes de la división entre las subespecies *Bos taurus* y *Bos indicus*, por lo tanto, este marcador puede predecir en ambas a diferencia del polimorfismo CAPN1 316 G/C que se generó una vez que se hizo la división de estas subespecies, especialmente en *Bos taurus* por lo que tiene un mayor efecto sobre la Fuerza de Corte en este tipo de ganado (White *et al.*, 2005; Casas *et al.*, 2006).

Aunque los marcadores en el gen Calpaína explican hasta el 25% de la variación genética en la suavidad de la carne (Allan y Smith, 2008) y hasta el 18% de su variabilidad fenotípica (Van Eenenaam *et al.*, 2007) hay evidencia reciente (Allais *et al.*,



2010) que indica que el efecto de los marcadores genéticos de CAPN1 no se extiende sostenidamente a todas las razas *Bos taurus* de regiones específicas, por lo que se ha sugerido la búsqueda de marcadores más apropiados.

Otros estudios, reportan valores de Fuerza Corte menores al presente trabajo. Smith *et al.* (2009) obtuvieron valores de  $3.50 \pm 0.15$  kg/cm<sup>2</sup> para el genotipo CG del marcador 316 en la Fuerza de Corte de carne madurada 14 días de ganado Nelore ( $P < 0.05$ ). A respecto, Page *et al.* (2004) reportaron valores menores para dicha característica, en carne madurada 14 días *post mortem* para el marcador CAPN1 316 genotipo CC, en muestras de ganado Simmental y ganado proveniente de diferentes cruzas.

Es importante destacar que a pesar de que la población estudiada presentó una alta frecuencia del genotipo favorable AA del gen CAST para suavidad, no existió efecto significativo ( $P > 0.05$ ) sobre la suavidad de la carne, lo que significa que no muestra estar asociado con la predicción de la variabilidad de esta característica tan importante. Este resultado coincide con lo observado por Gill *et al.* (2009) en un estudio en el que se evaluó el efecto de los polimorfismos del gen CAST en una población de cruzas de ganado comercial de la raza Aberdeen Angus y en el cual, no existió asociación entre este marcador y la Fuerza de Corte, hallazgo que puede deberse a la falta de consistencia al momento de seleccionar para una característica o fenotipo en particular y que de manera indirecta resulte en un aumento en la frecuencia del alelo favorable pero sin mostrar un efecto.

### **7.3 Efecto del grupo racial sobre el Marmoleo**

En el cuadro 15 se muestra el efecto del grupo racial sobre el marmoleo en la población estudiada.

**Cuadro 15. Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la variable marmoleo de acuerdo con grupo racial**

VARIABLE	GRUPO RACIAL					
	<i>Bos taurus</i> $\bar{X} \pm ee$	n	<i>B taurus/B indicus</i> $\bar{X} \pm ee$	n	<i>Bos indicus</i> $\bar{X} \pm ee$	N
Marmoleo (score)	4.07±0.19 <sup>a</sup>	33	1.75±0.09 <sup>b</sup>	144	1.20±0.21 <sup>c</sup>	18

<sup>a, b</sup> Literales diferentes en la misma línea indican diferencia significativa P<0.05

Como se puede observar, a medida que se incrementó el grado de inclusión del género *Bos indicus* los valores de marmoleo disminuyeron significativamente (P<0.05), siendo el grupo racial *Bos taurus* el que presentó mayores valores de dicha variable.

De acuerdo a la clasificación USDA, el marmoleo de la carne evaluada se encontró entre los rangos de trazas a modesto (valores entre 1 y 4.9). Al respecto, Méndez *et al.* (2009) en su estudio sobre caracterización de las canales comercializadas en México, reportaron que el 93.6% de las canales evaluadas, en su mayoría novillos menores a 18 meses, poseían valores de marmoleo que entraban dentro de las categorías: magro, trazas y ligero; situación similar presentaron Rubio *et al.* (2007) al reportar canales mexicanas con niveles de marmoleo que se clasificaban dentro del rango de magro a trazas.

En otro estudio previo, O'Connor *et al.* (1997) observaron menores valores de marmoleo en animales del grupo *Bos indicus* en comparación con los *Bos taurus*; y atribuyeron sus resultados a las diferencias en precocidad y crecimiento entre ambos tipos de ganado.

Existen trabajos en los que se comprueba que las cruza con altos porcentajes de inclusión *Bos indicus* tienen poca habilidad de depositar grasa intramuscular en comparación con aquellas de mayor porcentaje *Bos taurus* (Curi *et al.*, 2009; O'Connor *et al.*, 1997); estas características también están atribuidas a las diferencias de precocidad de las razas *Bos indicus* y *Bos taurus*, ya que los animales del grupo *Bos taurus* comienzan a depositar grasa subcutánea, intermuscular e intramuscular a periodos de tiempo menores que las razas *Bos indicus* (Bavera y Peñafort, 2005).

En el siguiente cuadro se presentan las medias de mínimos cuadrados para los marcadores TG5, LEP y GH asociadas al marmoleo.

**Cuadro 16. Medias de mínimos cuadrados y error estándar de los marcadores TG5, LEP y GH/*AluI* asociados al marmoleo**

<i>Locus</i>	<i>Genotipos</i>					
	<b>CC</b>	<b>n</b>	<b>CT</b>	<b>n</b>	<b>TT*</b>	<b>N</b>
<b>TG5</b>	2.36±0.11	158	2.41±0.20	22	2.23±0.28	9
<b>LEP</b>	2.38±0.12	101	2.27±0.13	65	2.32±0.22	17
<b>GH/<i>AluI</i></b>	2.41±0.13	13	2.57±0.17	33	2.11±0.24	133

\*Alelo teóricamente favorable

Como puede apreciarse ninguno de los tres marcadores analizados presentó efectos sobre el marmoleo, lo que indica que ni TG5, LEP o GH/*AluI* son una alternativa para apoyar las estrategias de mejoramiento genético, puesto que carecen de valor predictivo en nuestras condiciones de producción. Estudios previos han demostrado que existe asociación del marcador TG5 C/T con la variable marmoleo, sin embargo, ésta característica normalente, es evaluada subjetivamente y depende de la apreciación del evaluador por lo que podrían existir errores de estimación.

La literatura señala que el alelo T es el favorable para la presentación de una mayor cantidad de marmoleo en la carne (Barendse *et al.*, 1999). Barendse *et al.* (2004) encontraron que los genotipos TT y CT presentaron asociación con el marmoleo a pesar de que la presentación del genotipo TT es difícil de encontrar. Bonilla *et al.* (2008) encontraron efecto del genotipo CT sobre el porcentaje de grasa intramuscular (GIM) en carne comercial proveniente de diferentes ciudades de México.

Resultados similares al presente trabajo coinciden con lo reportado por Rincker *et al.* (2006) y Casas *et al.* (2005 y 2007). Estos estudios, tampoco encontraron asociación del marcador TG5 con el marmoleo y otras características de la canal en poblaciones de ganado *Bos taurus* y *Bos indicus*; solo se encontró que descendientes de ganado Wagyu

con genotipo TT tuvieron mayor marmoleo respecto a los individuos que presentaron genotipo CT o CC. Lo anterior indica que la variabilidad genética entre las poblaciones estudiadas, así como el sistema de producción pueden ser algunos de los factores que determinan la asociación de este marcador con el marmoleo. Dichos autores indican que es un marcador que podría ser utilizado en ganado con influencia Wagyu, sugiriendo que el alelo presenta herencia de tipo recesiva.

La asociación existente entre el marcador TG5 y el porcentaje de grasa intramuscular y el marmoleo reportada por Bonilla *et al.* (2010), señala que puede ser utilizado como una herramienta genética para seleccionar ganado, sin necesidad de conocer las relaciones de parentesco o la raza, ya que las asociaciones encontradas en poblaciones heterogéneas son fuertes indicadores de que el polimorfismo es el causante del cambio en el porcentaje de grasa intramuscular (Barendse *et al.*, 2004 y Bonilla, 2008).

#### **7.4 Efecto del marcador GH/Alu sobre el área de chuleta**

En la mayoría de los sistemas de evaluación, la predicción del rendimiento está en función del peso de la canal, y de uno o varios de los siguientes criterios: espesor y distribución de la grasa subcutánea, área del ojo de la chuleta, conformación y desarrollo muscular. Esto con el propósito de predecir la cantidad de músculo magro y grasa, que son los factores más importantes en la estimación del rendimiento de la canal. El área de la chuleta se mide entre 12<sup>a</sup> y 13<sup>a</sup> costillas sobre el músculo *Longissimus dorsi* de la canal y es utilizada como índice estimativo para determinar la cantidad de músculo y el rendimiento de las canales, debido a que el desarrollo del músculo *Longissimus dorsi* tiene una relación directa con el porcentaje total de carne en la canal.

Esta característica es de mediana heredabilidad y puede explicar entre el 76-90% de la variación del peso total del músculo de la canal (Sorensen *et al.*, 2002) y presenta una alta correlación positiva con el porcentaje de cortes de mayor valor en la canal. Esto sugiere que es posible seleccionar los reproductores de mayor área de chuleta y lograr un incremento paralelo del porcentaje de carne deshuesada (Guitou HR, 2006).

El cuadro 17 muestra las medias de mínimos cuadrados y error estándar del área de chuleta de acuerdo al tipo racial.

**Cuadro 17. Medias de mínimos cuadrados y error estándar de la medición del área de chuleta de acuerdo con el grupo racial**

VARIABLE	GRUPO RACIAL					
	<i>Bos taurus</i> $\bar{X} \pm ee$	N	<i>B taurus/B indicus</i> $\bar{X} \pm ee$	n	<i>Bos indicus</i> $\bar{X} \pm ee$	N
Área del ojo de chuleta (cm <sup>2</sup> )	74.21±3.21 <sup>b</sup>	32	76.73±1.49 <sup>b</sup>	142	82.59±3.38 <sup>a</sup>	18

(P=.08)

Estos resultados permiten observar que el grupo que mostró una tendencia (P=.08) a presentar mayor área del ojo de chuleta fueron los del tipo *Bos indicus*. Sin embargo, de acuerdo a lo reportado por Torrescano *et al.* (2010), las medias de los tres grupos evaluados se encuentran dentro del rango de aceptabilidad propuesto por el Sistema de Auditoría Nacional de la Calidad de la Carne de Bovino de Estados Unidos, (NBQA, por sus siglas en inglés), esta entidad auditora recomienda que el área del ojo de la chuleta debe estar entre 71.5 y 91 cm<sup>2</sup>.

Las medias de mínimos cuadrados y error estándar del marcador GH sobre el parámetro área de chuleta se muestran en el cuadro 18.

**Cuadro 18. Efecto del marcador GH/A/ul sobre el área de chuleta (cm<sup>2</sup>)**

Locus	Genotipos					
	GG	n	GC	n	CC*	N
GH/A/ul	73.76±3.95	12	76.66±2.73	33	78.80±2.02	133

\*Alelo teóricamente favorable

Podemos observar que no existió asociación entre este marcador y el área del ojo de chuleta en la población de estudio, puesto que los tres grupos evaluados presentaron medias muy similares. Esto coincide con el trabajo publicado por Curi *et al.* (2010) en el que compararon diferentes cruza de ganado *Bos indicus* y *Bos taurus* y el efecto de los

polimorfismos del marcador GH, reportando valores del área de chuleta en rangos de  $69.57 \pm 1.14$  a  $71.80 \pm 1.39$  cm<sup>2</sup>.

En un estudio previo (Barendse *et al.*, 2006), en el que se analizó el efecto del polimorfismo C/G del marcador GH y su asociación con el marmoleo y distribución de la grasa subcutánea en ganado de engorda de Australia, se encontró que no existió efecto significativo del marcador sobre el área de chuleta; sin embargo, si existió una tendencia hacia áreas de chuleta más grandes y canales más pesadas cuando se presentó un alelo C en el genotipo de los animales. Ardiyanti *et al.* (2009) estudiaron el efecto del gen GH en ganado Wagyu sobre características de la canal y encontraron que el alelo C estuvo asociado significativamente ( $P < 0.05$ ) con un aumento en el área de la chuleta en el grupo conformado por hembras ( $60.84$  cm<sup>2</sup>) a diferencia del grupo de hembras que no presentaban el alelo C ( $44.19$  cm<sup>2</sup>); de igual manera reportan un aumento en el grosor de la grasa en aquellos animales que presentaban el alelo C, con una diferencia de  $0.77$  cm sobre los homocigotos GG. En otro estudio previo, Katoh *et al.* (2008) señalan que terneros de la raza Wagyu con genotipo CC tenían mayores concentraciones basales de la hormona de crecimiento (GH) y que a su vez presentaban mayor peso a los 10 meses de edad, comparados con individuos CG y GG, lo que sugiere que la presencia del alelo C mejora el peso corporal en animales de esta raza (Barendse, 2006).

Meza *et al.* (2010) estudiaron el efecto del gen GH sobre rasgos de calidad de la carne en ganado Charolais proveniente del norte de México, obteniendo que el genotipo CC del marcador bGH/Alul mostró una tendencia sobre el espesor de la grasa dorsal ( $P = 0.09$ ), coincidiendo con lo reportado por Barendse *et al.* (2006), en un estudio en el que el genotipo CC se encontró asociado a mayor espesor de la grasa dorsal en razas Angus y Shorthorn, sugiriendo al alelo C como favorable para dicha característica. La falta de asociación del marcador con la predicción del músculo y peso de las canales, implica que estos alelos (C y G) no están significativamente involucrados con la estimación del músculo y grasa.

Curi *et al.* (2005) señalan que el alelo C, que codifica para el aminoácido Leucina presentó asociación con características de crecimiento como peso al sacrificio, ganancia diaria de peso y peso de la canal ( $P < 0.05$ ), pero no para el área de la chuleta en animales Cebú y sus cruza. Contrario a estos reportes, en estudios sobre el gen GH se ha encontrado que la variante valina en la misma posición (alelo G) es más eficiente que la

leucina (Di Stasio *et al.*, 2002; Etherton, 2004). Sin embargo, también se ha reportado que los efectos de un *locus* pueden verse influenciados por *loci* involucrados en la regulación de la expresión de GH y/o *loci* intragénicos en desequilibrio de ligamiento provocando un efecto positivo en una raza y negativo en otra (Yao *et al.*, 1996; Sørensen *et al.*, 2002 y Curi *et al.*, 2005).

## 8. CONCLUSIONES

Los marcadores CAPN1 4751 y CAPN1 316 se encontraron significativamente asociados a la suavidad de la carne en la población estudiada ( $P < 0.05$ ), lo que apoya su empleo como indicadores genéticos en los programas de mejoramiento genético de la calidad de la carne, siempre en combinación con las pruebas de progenie tradicionales ya que ayudaría a la identificación y selección de los individuos portadores de estos alelos.

El marcador CAST T1 no tuvo efecto sobre la suavidad de la carne bovina mexicana, por lo tanto, no es recomendable como predictor de esta característica.

En lo que se refiere al marmoleo, el grupo racial *Bos taurus* presentó mayor valores de ésta característica de calidad respecto a los demás grupos evaluados ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, los marcadores TG5 y LEP no presentaron un efecto significativo sobre el marmoleo y por lo tanto, carecen de utilidad para predecir esta característica. De igual manera, el marcador GH/*AluI* no presentó asociación con la medición del área de la chuleta, a pesar de que los animales del grupo *Bos indicus* obtuvieron áreas del ojo de chuleta mas grandes ( $P = 0.08$ ).

Los resultados obtenidos en este trabajo apoyan la necesidad de validación de los marcadores comercialmente disponibles para obtener información que fundamente el efecto de las variantes alélicas en diferentes ambientes de producción; así como también, sus frecuencias en diferentes poblaciones y razas.

La caracterización genético-molecular de los recursos genéticos locales puede ser una base para diseñar programas futuros de selección encaminados a incrementar el valor de la carne vacuna de México y así encontrar los marcadores moleculares ideales para la población bovina existente en el país y lo que demanda el mercado.



## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allais S, Levéziel H, Payet-Duprat N, Hocquette JF, Lepetit J, Rousset S, Denoyelle C, Bernard-Capel C, Journaux L, Bonnot A Renand G. 2010. The two mutations, Q204X and nt821, of the myostatin gene affect carcass and meat quality in young heterozygous bulls of French beef breeds. *J Anim Sci.* 88: 446-454.
2. Allan MF, Smith TPL. 2008. Present and future applications of DNA technologies to improve beef production. *Meat Sci.* 80: 79–85.
3. AMSA. 1995. Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurement of fresh meat. American Meat Science, Association & National Livestock and Meat Board. Chicago, USA.
4. Andersson L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature reviews genetics* 2: 130-138.
5. Ardiyanti A, Oki Y, Suda Y, Suzuki K, Chikuni K, Obara Y y Katoh K. 2009. Effects of GH gene polymorphism and sex on carcass traits and fatty acid compositions in Japanese Black cattle. *J Anim Sci.* 80: 62–69.
6. Barendse W, Bunch RJ and Harrison BE. 2005. The leptin C73T missense mutation is not associated with marbling and fatness traits in a large gene mapping experiment in Australian cattle. *Anim Genet.* 36: 86-88.
7. Barendse WJ, Bunch RJ, Harrison BE & Thomas MB. 2006. The growth hormone 1 GH1:c.457C>G mutation is associated with intramuscular and rump fat distribution in a large sample of Australian feedlot cattle. *Anim Genet.* 37: 211-214.
8. Barendse WJ. 1997. Assesing lipid metabolism. Available at: [ep.espacenet.com](http://ep.espacenet.com). Patent application WO9923248. Acceso: Julio 27, 2012.
9. Barendse WJ, Bunch R, Thomas M, Armitage S, Baud S, y Donaldson N. 2001. The TG5 DNA marker test for marbling capacity in Australian feedlot cattle. Available at: [www.beef.crc.org.au/Publications/ MarblingSym/Day1/Tg5DNA](http://www.beef.crc.org.au/Publications/MarblingSym/Day1/Tg5DNA). Acceso: Julio 27, 2012.
10. Barendse WJ, Bunch R, Thomas M, Armitage S, Baud S, Donaldson N. 2004. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Aust J Exp Agr* 44: 669-674.
11. Barton-Gade PA. 1988. The effect of breed on meat quality characteristics in pigs. In Proc. 34 th Int. Congr. Meat Sci Technol. Brisbane, Australia. Part B: 568-570.

12. Bavera GA y Peñafort C. 2005. Examen reproductivo en toros. Cursos de producción bovina de carne. FAV UNRC. [www.produccionanimal.com.ar](http://www.produccionanimal.com.ar). Argentina. p 1-16.
13. Belew JB, Brooks JC, McKenna DR, Savell JW. 2003. Warner Bratzler shear evaluation of 40 bovine muscles. *Meat Sci.* 64: 507-512.
14. Bidner TD, Wyatt WE, Humes PE, Franke DE, Blouin DC. 2002. Influence of Brahman-derivate breeds and Angus on carcass traits, physical composition, carcass pH and temperatures and palatability. *J Anim Sci.* 80:997-1004.
15. Bishop MD, Kappes SM, Keele W, Stone RT, Sunden SLF, Hawkins, GA, Toldo SS, Fries R, Grosz MD, Yoo J, and Beattie CW. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics.*136:619-639.
16. Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME and Boisclair YR. 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J Endoc.* 171: 339–348
17. Boehm M, Kendall T, Thompson V, Goll D. 1998. Changes in the calpastatin during *post mortem* storage of bovine muscle. *J Anim Sci.*76: 2415-2434.
18. Bonilla CA. Rubio MS, Sifuentes AM, Parra-Bracamonte GM, Arellano VW, Méndez MRD, Berruecos JM, Ortiz R. 2010. Association of CAPN1 316, CAPN1 4751 and TG5 markers with Mexican bovine meat quality traits. *Genet Mol Res Evol Tech.* 9(4): 2395-2405.
19. Bonilla CA. Polimorfismo en los genes CAPN1 y TG y su asociación con la calidad de la carne bovina mexicana. Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción y de la SaludAnimal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 2008. 59 p.
20. Buchanan FC, Fitzsimmons CJ, Van Kessel AG, Thue TD. 2002. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol.* 34: 105-116.
21. Casas E. 2002. Identification of quantitative trait loci in beef cattle. *Arch Lat Prod Anim.*10: 54-61.
22. Casas E, Keele JW, Shackelford SD, Koohmaraie M, Stone RT. 2004. Identification of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Anim Genet.* 35: 2-6.
23. Casas E, Shackelford SD, Keele JW, Koohmaraie M, Smith TPL, Stone RT. 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *J Anim Sci.*81: 2976-2983.

24. Casas E, Shackelford SD, Keele JW, Stone RT, Kappes SM and Koohmaraie M. 2000. Quantitative trait loci affecting growth carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *J anim Sci* 78: 560-569.
25. Casas E, Stone RT, Keele JW, Shackelford SD, Kappes SM and Koohmaraie M. 2001. A comprehensive search for quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternative forms of myostatin gene. *J anim Sci* 79: 854-860.
26. Casas E, White SN, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, Riley DG, Chase CC, Johnson DD and Smith TPL. 2006. Effects of *calpastatin* and  $\mu$ -*calpain* markers in beef cattle on tenderness traits. *J Anim Sci.* 84: 520–525.
27. Casas E, White SN, Riley DG, Smith TPL, Brenneman RA, Olson TA, Johnson DD, Coleman SW, Bennett GL and Chase CC. 2005. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. *J Anim Sci.* 83: 13-19.
28. Casas E, White SN, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M, Bennett GL and Smith TPL. 2007. Assessing association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass cattle. *J Anim Sci.* 85: 2807-2814.
29. Chung HY, Davis ME and Hines HC. 1999. A DNA polymorphism of the bovine calpastatin gene detected by SSCP analysis. *Anim Genet.* 30: 80.
30. Cong M, Thompson VF, Goll DE, and PB Antin. 1998. The bovine calpastatin gene promoter and a new N-terminal region of the protein are targets for cAMP-dependent protein kinase activity. *J Biol Chem.* 273: 660-666.
31. Corva PM, Soria L, Villarreal EL, Schor A, PerezCenci M, Motter M, Mezzadra C, MelucciLM, Paván E, Depetris G, Miquel MC, SantiniFJ y Grigera Naón JJ. 2007. Association of polymorphisms on the CAPN1 and CAST genes with meat tenderness in beef cattle of Argentina. *Genet Mol Biol.* 30 (4): 1064-1069.
32. Curi RA, Chardulo AL, Mason MC, Arrigoni M, Silveira AC, De Oliveira HN. 2009. Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nellore beef cattle (*Bos indicus*) and in their crosses with *Bos taurus*. *Anim Genet.* 40: 456-462.
33. Curi RA, Chardulo AL, Giusti J, Silveira AC, Martinis CL, De Oliveira HN. 2010. Assessment of GH1, CAPN1 and CAST polymorphisms as markers of carcass and meat traits in *Bos Indicus* and *Bos taurus-Bos indicus* cross beef cattle. *Meat Sci:* 86:

- 915-920.
34. De Tullio R, Passalacqua M, Averna M, Salamino F, Melloni E, Pontremoli S. (1999). Changes in intracellular localization of calpastatin during calpain activation. *Biochem J.* 343: 467-472.
  35. Dekkers JCM y Hospital F. 2002. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nat Rev Genet.* 3: 22-32.
  36. Dekkers JCM y Van Arendonk JAM. 1998. Optimizing selection for quantitative traits information on an identified locus in outbred populations. *Genet Res* 71:257-275.
  37. Dekkers JCM. 2004. Commercial application of marker and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J Anim Sci* 82 (Supplement 13): E313-E328.
  38. Delgado EJ, Rubio MS, Iturbe FA, Méndez RD. 2005. Composition and quality of Mexican and imported retail beef in Mexico. *Meat Sci.* 69:465–471.
  39. Di Stasio L, Brugiapaglia A, Galloni M, Destefanis G. 2007. Effect of the leptin c.73T>C mutation on carcass traits in beef cattle. *Anim Genet.* 38: 316-317.
  40. Dybus A. 2002. Associations between *Leu/Val* polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black-and-White cattle. *Arch. Tierz. Dummerstorf* (45) 5: 421-428.
  41. Etherton TD, Bauman DE. 1998. Biology of Somatotropin in Growth and Lactation of Domestic Animals *Physiol Rev.* 78:745-761.
  42. Etherton TD. 2004. Somatotropic function: The somatomedin hypothesis revisited. *J Anim Sci.* 82:E239-244.
  43. Falconer DS & MacKay TFC. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4<sup>th</sup> ed. Longman Scientific and Technical, New York, USA.
  44. Franke DE, Thomas MG, Garrett AJ, 2007. An evaluation of SNP association with calpastatin enzyme activity and shear force measurements in Brahman steers. *J Anim Sci.* 85.
  45. Garrick DJ y Johnson PL. 2003. Examples of marker-assisted selection in sheep and cattle improvement in New Zealand. In Proceedings: 8<sup>th</sup> Genetic Prediction Workshop “Molecular Approaches to Genetic Improvement”, Kansas City, Missouri, December 4-6. Pp. 16-34.
  46. Geary TW, McFadin EL, MacNeil MD, Grings EE. 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. *J Anim Sci.* 81: 1-8.
  47. Geesink GH, Kuchay S, Chishti AH, Koohmaraie M. 2006. Micro-calpain is essential

- for *postmortem* proteolysis of muscle proteins. *J Anim Sci.* 84(10): 2834-2840.
48. Goll DE, Netti G, Mares SW, Thompson VF. 2008. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains. *J Anim Sci.* 2008. 86: E19–E35.
  49. Gordon DF, Quick DP, Erwinj CR, Donelsonan JE and Maurer RA. 1983. Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene. *Mol. Cell. Endocrinol.* 33: 81-95.
  50. Hansen GR, 2004. Genetic Selection Using Genetic Markers. Beef Cattle Short Course. North Florida Research and Education Center. 7-20 pp.
  51. Hansen GR & Riley DG. 2006. Expected Progeny Differences in Beef Cattle. University of Florida. IFAS Extension. Publ. #AN164. <http://edis.ifas.ufl.edu/AN164>.
  52. Harper GS, Pethick DW. 2004. How might marbling begin? *Aus J of Exp Agri.* 44: 653-662.
  53. Hocqette JF, Gigli S. 2005. The challenge of quality. Indicators of milk and beef quality, Publ.112, Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
  54. Huffman KL, Miller MF, Hoover LC, Wu CK, Brittin HC & Ramsey CB. 1996. Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks consumed in the home and the restaurant. *J Anim Sci.* 74: 94-96.
  55. Juszczyk-Kubiak E, Flisicowski K, Wicinska K, Poloszynowicz J, Rosochacki S. 2009. Identification of the new polymorphism in the promoter region of the CAST gene in cattle. *Meat Sci.* 82: 278-283.
  56. Kappes SM, Keele JW, Stone RT, McGraw RA, Sonstegard TS, Smith TPL, Lopez-Corrales NL y Beatie CW. 1997. A Second-Generation Linkage Map of the Bovine Genome. *Genome Res.* 7: 235-249.
  57. Kato K, Kouno S, Okazaki A, Suzuki K, Obara Y. 2008. Interaction of GH polymorphism with body weight and endocrine functions in Japanese Black calves. *Dom Anim Endo.* 34, 25–30.
  58. Kent MP, Spencer MJ & Koohmaraie M. 2004. *Post mortem* proteolysis is reduced in transgenic mice overexpressing calpastatin. *J Anim Sci.* 82: 794-801.
  59. Kononoff PJ, Deobald HM, Stewart EL, Laycock AD. 2005. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade, and carcass weight of beef cattle. *J Anim Sci.* 83: 927-932.
  60. Koohmaraie M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43: 193-201.

61. Koohmaraie M. 1994. Muscle proteinases and meat ageing. *Meat Sci* 36: 93 – 104.
62. Lagonigro R, Wiener P, Pilla F, Woolliams JA and Williams JL. 2003. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. *Anim Genetics* 34: 371–374.
63. Livak KJ, 1999. Allelic discrimination using fluorogenic probes and 5' nuclease assay. *Genetic Analysis: Biom Eng.* 14: 143-149
64. Martinez-Velazquez G, Gregory KE, Bennett GL, Van Vleck LD. 2003. Genetic Relationships between scrotal circumference and female reproductive traits. *J Anim Sci.* 81: 395-401.
65. McCarthy M, De Boer M, O'Reilly S, Cotter L. 2003. Factors influencing intention to purchase beef in the Irish market. *Meat Sci.* 65: 1071-1083.
66. Méndez RD, Meza CO, Berruecos JM, Garcés P. 2009. A survey of beef carcass quality and quantity attributes in México. *J Anim Sci.* 87:3782-3790.
67. Meuwissen THE & Goddard ME. 1996. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genet Select Evol.* 28 (2): 161-176.
68. Meza LA. 2010. Determinación de los polimorfismos del gen de la hormona de crecimiento y su efecto sobre las características productivas en ganado charolais. Tesis de Maestría en Ciencias de Biotecnología Genómica. Centro de Biotecnología Genómica. Instituto Politécnico Nacional.
69. Mezzadra CA, Melucci LM and Miquel MC. 2009. Effect of leptin gene polymorphisms on growth, slaughter and meat quality traits of grazing Brangus steers. *Genet Mol Res.* 8 (1): 105-116.
70. Montaldo H y Meza-Herrera CA. 1998. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electron J Biotechnol.* 1: 1-7.
71. Morgan, J.B. Tenderness problems and potential solutions. In: The Final Report of the National Beef Quality Audit – 1991, p. 180-187. 1992.
72. Nishimura T, Hattori A, Takahashi K. 1999. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese Black cattle: effect marbling on beef tenderness. *J Anim Sci.* 77: 93-104.
73. Nkrumah JD, Li C, Yu J, Hansen C. 2005. Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *J Anim Sci.* 83: 20-28.
74. O'Brien SJ, Menotti RM, Murphy WJ, Nash WG, Weinberg J, Stanyon R, Copeland

- NG, Jenkins NA, Womack JE y Marshall GJA. 1999. The Promise of Comparative Genomics in Mammals. *Science*. 286: 458-481.
75. O'Connor SF, Tatum JD, Wulf DM, Green RD y Smith GC. 1997. Genetic effects of beef tenderness in *Bos indicus* composite and *Bos Taurus* cattle. *J Meat Sci*. 75: 1822-1830.
76. Oddy VH, Harper GS, Greenwood PL, McDonagh MB. 2001. Nutritional and developmental effects on the intrinsic properties of muscles as they relate to the eating quality of beef. *Aust J Exp Agr*. 41: 921.
77. Page BT, Casas E, Quaas RL, Thallman RM, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, White SN, Bennett GL, Keele JW, Dikeman ME y Smith TPL. 2004. Association of markers in the bovine *CAPN1* gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J Anim Sci*. 82: 3474–3481.
78. Page BT, Casas E, Heaton MP, Cullen NG, Hyndman DL, Morris CA, Crawford AM, Wheeler TL, Koohmaraie M, Keele JW, Smith TP. 2002. Evaluation of single nucleotide polymorphisms in *CAPN1* for association with meat tenderness in cattle. *J Anim Sci*. 80: 3077-3085.
79. Parra-Bracamonte M, Sifuentes-Rincón AM. 2008. El mejoramiento genético en la industria ganadera para carne: Retos y perspectivas. *Rev. Coahuila Ganadero*: 12-15.
80. Peake A. 1999. Assisted selection for beef palatability characteristics. Animal Science Department Michigan State University East Lansing, MI 48824.
81. Quaas RL, Thallman RM, Van Eenennaam AL, Fernando RL. 2006. Validation of commercial DNA test for quantitative beef traits. In 8<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Belo Horizonte, MG, Brasil.
82. Raymond M and Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2). Population genetics software for exact test and ecumenicist. *J. Heredity*, 86: 248-249
83. Rhee M, Ryu Y, Kim B. 2006. *Postmortem* metabolic rate and calpain system activities on beef longissimus tenderness classifications. *Biosc Biotechnol Biochem*. 70 (5): 1166-1172.
84. Shackelford SD, Wheeler TL and Koohmaraie M. 1995. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *J Anim Sci*. 73: 3333-3340.

85. SAS. Institute Inc. Statistical Analysis System. User's Guide: Statistics. Version 6.12. Edition. Cary, North Carolina. USA 1996.
86. Schenkel FS, Miller SP, Ye X, Moore SS. 2005. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J Anim Sci.* 83: 2009-2020.
87. Schenkel FS, Miller SP, Jiang Z, Mandell IB, Ye X, Li H and Wilton JW. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J Anim Sci.* 84: 291-299.
88. Sensky P, Parr T, Bardsley R and Buttery P. 2001. Meat tenderization: the role of calpains. *Proc Br Soc Anim Sci.* 239-242.
89. Smith TPL, Casas E, Rexroad CE, Kappes SM y Keele JW. 2000. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *J Anim Sci* 78: 2589-2594.
90. Sørensen P, Grochowska R, Holm L, Henryon M, and Løvendahl P. 2002. Polymorphism in the Bovine Growth Hormone Gene Affects Endocrine Release in Dairy Calves. *J Dairy Sci.* 85: 1887-1893.
91. Soria LA y Corva PM. 2004. Factores genéticos y ambientales que determinan la suavidad de la carne bovina. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 12 (2): 73-88.
92. Strong J. 2004. Differences in carcass grading schemes used in the USA, Japan and Australia. *Aust J Exp Agric.* 44: 675-680.
93. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards JG, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Woolf EA, Monroe CA, and Tepper RI. 1995. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83: 1263-1271.
94. Taylor RG, Geesink GE, Thompson VF, Koohmaraie M and Goll DE. 1995. Is Z-disk degradation responsible for *post mortem* tenderization? *J Anim Sci.* 73: 1351-1367.
95. Unanian MM, Chaves C, Torres-Cordeiro CM, Ribeiro-Frietas A. and Josahkian LA. 2002. Possible Associations between Bovine Growth Hormone Gene Polymorphism and Reproductive Traits. *Braz Arch Biol Technol.* (45): 293-299.
96. Van Eenennaam AL, Li J, Thallman RM, Quaas RL, Dikeman ME. 2007. Validation of commercial DNA test for quantitative beef quality traits. *J Anim Sci*, 85: 891-900.
97. Vignal A, Milan D, San Cristobal M, Eggen A. 2002. A review on SNP and other types



- of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Selec Evol.* 34: 275-305.
98. Warwick J & Legates J. 1980. Cría y mejora del ganado. 3ª ed. Interamericana McGraw-Hill. México. 623 p.
99. Wegner J, Huff P, Xie CP, Schneider F, Teuscher F, Mire PS, Mir Z, Kazala, EC, Weselake RJ and Ender K. 2001. Relationship of plasma leptin concentration to intramuscular fat content in beef from crossbred Wagyu cattle. *Can. J Anim Sci.* 81: 451-457.
100. White SN, Casas E, Wheeler TL, Shakelford SD, Koohmaraie M. 2005. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *J Anim Sci.* 83: 2001-2008.
101. Yao J, Aggrey SE, Zadworny D, Hayes J F and Kihllein U. 1996. Sequence Variations in the Bovine Growth Hormone Gene Characterized by Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) Analysis and Their Association with Milk Production Traits in Holsteins. *Genetics* 144: 1809-1816.
102. Bindon BM. 2004. A review of genetic and non-genetic opportunities for manipulation of marbling. *Austral J Exp Agric.* 44: 687-696.
103. Marshall DM. 1999. Genetics of meat quality. In: The genetics of cattle. R.F Fries and A. Ruvinsky (Ed.). CABI Publishing. New York. 605 p.

# ANEXO I

## CUESTIONARIO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE CARNE BOVINA EN MÉXICO

### RANCHOS / CORRALES DE ENGORDA

#### Objetivo:

Contar con información de la producción de ganado bovino del país, fundamentalmente en su etapa de finalización que contribuya al desarrollo de tecnologías y diseño de políticas que garanticen una excelente calidad de la carne en el mercado nacional e internacional, de manera que se asegure una mayor equidad en los eslabones de la cadena de valor de la carne bovina y con ello mejorar la eficiencia de la producción, su rentabilidad, bienestar y la salud de los consumidores finales.

De antemano agradecemos el apoyo y establecemos el compromiso de que sus respuestas a este cuestionario serán completamente confidenciales, y sólo se utilizarán con fines de investigación.

#### A) DATOS GENERALES DE LA GANADERÍA

Nombre del encuestado (deseable no indispensable):

Puesto:  Tiempo de trabajar en el puesto:

Nombre de la ganadería:

Domicilio (croquis de localización anexo)

Correo:

Teléfono: 328 52 4 4000 Ext. 4016

Número de animales de la ganadería

Totales \_\_\_\_\_

Recría o repasto \_\_\_\_\_

Engorda \_\_\_\_\_

El rancho es:

Cooperativa [ ]

Sociedad privada [ ]

Un solo dueño [ ]

## B) TIPO DE ANIMALES

### 1. Mencione la procedencia de los animales

Estado de la República o País	%	Km recorridos	Tiempo de viaje

Estado de la República o País	Num de paradas	Tiempos de descanso	
-------------------------------	----------------	---------------------	--

¿Se les proporciona agua/alimento durante el transporte?

**2. Que tipo de razas maneja**

Raza (especificar) o cruza	%
----------------------------	---

**3. En que se basa para comprar sus animales (indique los que correspondan)**

1. **Genética (cebuíno/europeo/cruzas, color)**
2. **Peso**
3. **Conformación**
4. **Bulto**
5. **Otros**

**6. ¿Exige un programa sanitario del ganado a sus proveedores?**

No  Si  especifique cual:

- Prueba de brucelosis
- Prueba de tuberculosis
- Baño garrapaticida
- Certificado de proveedor confiable
- Programas de desparasitación (interna o externa)
- Retiro de antibióticos en alimento
- Otro, especifique: \_\_\_\_\_

7. ¿Realizan alguna visita de supervisión (técnica) a sus proveedores?

<input type="checkbox"/> ]	No	SI	<input type="checkbox"/> ]	Si, especificar frecuencia y motivo:
----------------------------	----	----	----------------------------	--------------------------------------

8. ¿Exigen condiciones durante el transporte de los animales hacia el rancho/engorda que garanticen su bienestar?

No  ] Si  ], especifique cual: SE HACE RESPONSABLE AL TRANSPORTISTA POR EL GANADO

Uso de tranquilizante durante el transporte, especificar: _____	<input type="checkbox"/> ]
Uso de camiones especiales para cada especie	<input type="checkbox"/> ]
*Tiempo de recorrido ( _____ horas)	<input type="checkbox"/> ]
Horario de recepción de los animales (en el rancho?) 24 Hrs	<input type="checkbox"/> ]
Instalaciones para la recepción de animales (en el rancho?)	<input type="checkbox"/> ]
Otros (Especificar) _____	<input type="checkbox"/> ]

\*Del lugar donde se producen los animales al lugar del sacrificio

9. Porcentaje de animales que mueren durante el transporte y recepción al rancho o que llegan lesionados

Muertos

Lesionados \_\_\_\_\_

10. Pone a sus animales en un programa especial de manejo y alimentación a su llegada al rancho?

SI  ] NO  ]

11. En caso de que su respuesta a la pregunta anterior sea SI mencione en qué consiste.

RECEPCION CON FORRAJE, ELECTROLITOS Y FORMULA F1

### C) MANEJO DE LOS ANIMALES EN EL RANCHO / CORRAL DE ENGORDA

1. Castra a los machos: SI  ] NO  ]

2. Método de castración \_\_\_\_\_
3. Edad de castración \_\_\_\_\_
4. Implanta : SI [ ] NO [ ]
5. Qué implante usa
6. Cuándo pone el implante
7. Por cuanto tiempo implanta
8. Cuántos días de retiro antes de llevar el animal al rastro
9. Tiene conocimiento del Bienestar Animal (BA) \_\_\_\_\_
10. Realiza acciones en su rancho a favor del BA \_\_\_\_\_
11. Utiliza  $\beta$ -agonistas en la finalización del ganado \_\_\_\_
12. Si utiliza, de qué tipo es
13. Cuántos días de retiro antes de llevar el animal al rastro
14. Utiliza algún otro promotor de crecimiento
15. Porcentaje de sombra en el corral
16. Numero de animales por corral
17. Tamaño de corral
18. Piso del corral
19. Capacidad de Bebederos
20. Temperatura del agua
21. Mezclan lotes de diferentes procedencias
22. Mezclan sexos, tamaños diferentes

11. ¿Cuántos animales sacrifica por día/semana/mes?

Tipo	Peso final	Porcentaje
Vacas		
Vaquillas		
Machos enteros		
Machos castrados		

#### D) ALIMENTACIÓN DE LOS ANIMALES

a. ¿Qué tipo de forraje ofrece a sus animales y en qué proporción? \_\_\_\_\_

INICIO

**PRODUCCION**

b. ¿Qué tipo de grano ofrece a sus animales y en qué proporción? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

c. Indique otros ingredientes que constituyen la dieta de sus animales \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

c. ¿Por cuánto tiempo engorda a los animales? (en función de peso inicial y sexo)

d. ¿Cuántas fases de alimentación tiene y cuál es el tiempo de duración de cada una de ellas?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Establezca las diferencias entre fases de alimentación (contenido de energía, proteína, fibra, etc.?) \_\_\_\_\_

f. Formula usted sus dietas para el ganado? Si \_\_\_ No \_\_\_

g. Si es No, quién le ayuda a formularlas \_\_\_\_\_

h. ¿Usa sales minerales? \_\_\_\_\_

12. ¿Cuál es el sistema de alimentación utilizado para lograr la calidad de la canal y de la carne requerida por el mercado?

TIPO DE ALIMENTACIÓN	SI	NO
Pastoreo	[ ]	[ ]
Estabulado	[ ]	[ ]
Semi-estabulado	[ ]	[ ]
Uso de promotores de crecimiento (especifique)	[ ]	[ ]
Otro, especificar _____	[ ]	[ ]

#### E) MATANZA DE ANIMALES Y COMERCIALIZACIÓN DEL GANADO

1. ¿Vende sus animales a un intermediario?

SI [ ] NO [ ]

2. ¿Vende sus animales al rastro?

SI [ ] NO [ ]

3. ¿Sólo maquila sus animales en un rastro?

SI [ ] NO [ ]

Si es NO, ¿en cuántos?

4. ¿Costo de maquila? Municipal \_\_\_\_\_ TIF \_\_\_\_\_

5. ¿Dónde sacrifica a sus animales?

[ ]	Municipio:	[ ]	Otros municipios (especificar) _____
[ ]	Estado	[ ]	Otros estados (especificar)

6. Mezcla animales de diferentes lotes \_\_\_\_

7. ¿Qué tipo de rastro utiliza para sacrificar a sus animales?

[ ]	Municipal	[ ]	Otros (Especificar): _____
[ ]	TIF	[ ]	

8. ¿Tiene un precio diferencial su ganado?

No [ ] Si [ ], especifique los factores que considera:



Factor	Porcentaje
Variación de peso	
Rendimiento en canal	
Tipo racial	
Calidad de la canal	
Calidad de la carne	
Otros, especificar: _____	

9. ¿Exigen condiciones en el transporte del ganado para garantizar la calidad de la canal?

No  Si , especifique cual: SE TRASLADA CAMINANDO.

Uso de tranquilizante durante el transporte, especificar	<input type="checkbox"/>
Uso de camiones específicos para cada para su transporte	<input type="checkbox"/>
*Tiempo de recorrido ( _____ horas)	<input type="checkbox"/>
Horario de recepción (por parte del rastro?) de los animales	<input type="checkbox"/>
Instalaciones para la recepción de animales (en el rastro?)	<input type="checkbox"/>
Otros (Especificar) _____	<input type="checkbox"/>

\*Del lugar donde se producen los animales al lugar de matanza

10. ¿Conoce el porcentaje de animales que mueren durante el transporte y recepción en el rastro?

No  Si, especifique % NINGUNO

11. ¿Existen condiciones especiales previas a la matanza para garantizar la calidad de la canal?

No  Si , especifique cual: TIEMPO DE REPOSO Y MANEJO DE GANADO SIN ESTRÉS.

Cuenta con área de desembarque con rampas	<input type="checkbox"/>
Instalaciones de acuerdo a la especie en el área de recepción	<input type="checkbox"/>
Capacidad adecuada a la especie en el área de recepción	<input type="checkbox"/>
Existen bebederos en el área de recepción	<input type="checkbox"/>
Reposo previo al sacrificio ( <u>72</u> horas)	<input type="checkbox"/>
Ayuno previo al sacrificio ( horas)	<input type="checkbox"/>
Método de sujeción	<input type="checkbox"/>

Otros (favor de especificar)

12. Mencione el Método de arreo que utiliza para el traslado del ganado (picana, chicharra, chicote, palo, etc.)

---

13. ¿De los animales que llegan al Rastro cuántos son rechazados?

14. ¿Puede mencionar las causas de rechazo y su porcentaje?

---

15. ¿Existe un médico certificado en el área de decomisos?

No  Si

16. Cuando se dan los decomisos ¿qué partes del animal son decomisados?.

---

17. ¿Tiene conocimiento sobre el destino de los decomisos?

---

18. ¿Tiene conocimiento sobre las causas de los decomisos y su porcentaje?

---

19. ¿La carne de sus animales es sometida a algún tipo de tratamiento post-mortem para mejorar su calidad?

<input type="checkbox"/>	Estimulación eléctrica
<input type="checkbox"/>	Enfriamiento rápido
<input type="checkbox"/>	Intervención antimicrobiana
<input type="checkbox"/>	Inyección de marinado
<input type="checkbox"/>	Enmantado
Otros: especificar _____	

20. ¿Qué porcentaje de sus canales presentan algún defecto (hematoma, desgarre, etc.?)

---

---

---

21. ¿Hace uso de algún sistema de clasificación de canales?

<input type="checkbox"/>	No
<input type="checkbox"/>	Si
Indique cuál es:	

22. ¿Las mediciones en la canal incluyen marmoleo?

SI  NO

23. Desde su punto de vista ¿Cuáles son los 3 principales problemas que tiene con relación al control de la calidad de la carne de sus animales?

1.	
2.	
3.	