



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE POLIMORFISMOS SOBRE FENOTIPOS
ASOCIADOS A LA TERNEZA DE CARNE EN LAS SUBESPECIES *Bos taurus*,
Bos indicus Y *Bos taurus* x *Bos indicus*

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS

Presenta

Ana Elvia Sánchez Mendoza

Comité Tutor:

Dr. J. Francisco Montiel Sosa
(FES - Cuautitlán)

Dr. Salvador Fonseca Coronado
(FES - Cuautitlán)

Dr. Jesús Hernández López
(CIAD, Sonora)

Dr. Carlos Ignacio Soto Zarate
(FES - Cuautitlán)

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2021



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.

A mi Mamá y Papá por ser mi mayor ejemplo, mi motor, por su apoyo incondicional siempre.

A mis hermanos por ser mi soporte, por compartir, por estar.

~Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo, y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa~

Gandhi

La autora agradece el apoyo para el financiamiento de la investigación de tesis a la UNAM, FES-Cuautitlán a través de sus programas PIAP1837: “Aplicación de herramientas moleculares en el área agroalimentaria y diagnóstico de enfermedades mitocondriales”, PAPIIT IN226419: “Asociación del fondo genético mitocondrial en enfermedades mitocondriales de la población mexicana” y la beca escolar otorgada a la autora a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), ID 422754.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Francisco Montiel Sosa, tutor principal, por la confianza, compromiso y dedicación durante el desarrollo del proyecto.

Al comité tutor integrado por el Dr. Salvador Fonseca Coronado y Dr. Carlos Ignacio Soto Zarate, por la disposición y apoyo siempre, por sus conocimientos y experiencia que enriquecieron el desarrollo y conclusión de este proyecto.

Al M. en C. Francisco Rodolfo Gonzáles Díaz, técnico académico titular c, de la Unidad de Investigaciones Multidisciplinarias, campo 4, por el apoyo técnico para la ejecución de este proyecto.

A los Dres. Rosalía Meléndez Pérez y Dr. José Luis Arjona Román del laboratorio de Análisis Térmico y Estructural de Alimentos, UIM, FES- Cuautitlán, UNAM, por las aportaciones desde su conocimiento y apoyo técnico para el desarrollo y ejecución de este proyecto.

Al Dr. Pedro Garcés Yépez de la FMVZ, UNAM y al M en C. Manuel Andrés González Toimil de la FES-Cuautitlán por las facilidades y el apoyo técnico para la realización de esta investigación.

RESUMEN

La terneza es una característica importante para la comercialización de carne de bovino; el grado de terneza está asociado a factores genéticos como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). El objetivo de este trabajo fue evaluar los SNPs G530A, C357G, G1795A y G1181A como predictores de terneza en una población de ganado conformada por los grupos genéticos *Bos taurus*, *Bos indicus* y *Bos tauros* x *Bos indicus*. Se obtuvieron noventa muestras de músculo *longissimus dorsi*. Se determinaron los parámetros de pH y color a las 24 h y 1 día post-descongelación, la terneza se determinó como fuerza de corte de Warner-Bratzler a 1 día post-descongelación. La genotipificación de los SNPs se realizó por PCR-RFLP. Se utilizó un análisis ANDEVA multifactorial para analizar la relación de pH y color con los grupos genéticos y tiempos de evaluación, mientras que la asociación entre los SNPs y la terneza se determinó mediante un modelo de efectos mixtos. Los resultados indicaron que el grupo genético no influyó sobre los parámetros de pH y color ($p > 0.05$); sin embargo, se identificó una diferencia significativa de estos parámetros con respecto al tiempo de evaluación, atribuido principalmente al método de conservación que fue la congelación. Por otro lado, se determinó que el factor del grupo genético sí influyó sobre la terneza ($p < 0.05$). Para el SNP C530A se detectó baja frecuencia del genotipo AA (11%), de forma similar para el SNP G1181A se obtuvo baja frecuencia para el genotipo AA (33%), para los SNPs C357G y G1795A se obtuvieron mayores frecuencias para los genotipos ancestrales CC (71.1%) y GG (20%), respectivamente. En la población analizada no se encontró una asociación genotípica o alélica entre los SNPs ($p > 0.05$) y la terneza, misma que sí ha sido descrita para estas subespecies en otras regiones a nivel mundial. Esto indica la necesidad de llevar a cabo un análisis de validación de los SNPs de interés, para poder introducirlos de manera favorable mediante programas de selección asistida por marcadores.

Palabras clave: SNPs, PCR-RFLP, bovino, calidad de la carne, terneza.

ABSTRACT

Tenderness is an important characteristic for the marketing of beef; the degree of tenderness is associated with genetic factors such as single nucleotide polymorphisms (SNPs). The aim of this work was to evaluate SNPs G530A, C357G, G1795A and G1181A as predictors of tenderness, in a population of cattle formed by the genetic groups *Bos taurus*, *Bos indicus* and *Bos tauros x Bos indicus*. Ninety samples of longissimus dorsi muscle were obtained. The pH and color parameters were determined at 24 h and 1 day after defrosting, the tenderness was determined as the Warner-Bratzler shear force at 1 day after defrosting. Genotyping of SNPs was performed by PCR-RFLP. A multifactorial ANOVA analysis was performed to analyze the relationship of pH and color with genetic groups, while the association between SNPs and tenderness was determined by a mixed effects model. The results indicated that the genetic group does not influence the parameters of pH and color ($p > 0.05$); however, a significant difference in these parameters was determined with respect to the evaluation time, mainly attributed to the preservation method that was freezing. On the other hand, it was determined that the genetic group factor had influence on the tenderness ($p < 0.05$). For SNP C530A low frequency of genotype AA (11%) was detected, similarly for SNP G1181A low frequency was obtained for genotype AA (33%), for SNPs C357G and G1795A higher frequencies were obtained for ancestral genotypes CC (71.1%) and GG (20%), respectively. The results established that there is no influence of these SNPs ($P > 0.05$) over the tenderness, in addition, the evaluation of the interaction of the fixed factors between genetic groups and SNP has no significance on the tenderness ($p > 0.05$) which concludes that SNPs are not characteristic of any specific genetic group. This indicates the need to carry out a validation analysis of the SNPs of interest, in order to be able to introduce them favorably through marker-assisted selection programs.

Keywords: SNPs, PCR-RFLP, cattle, meat quality, tenderness

CONTENIDO

RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
ÍNDICE DE FIGURAS	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	10
INTRODUCCIÓN.....	12
CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO	13
1.1 Importancia del sector cárnico.....	13
1.2 Comportamiento actual del sector cárnico bovino nacional	14
1.3 Calidad de la carne	15
1.4 Terneza	15
1.4.1 Factores que influyen en la terneza	16
1.4.1.1 Tipo de musculo	16
1.4.1.2 Factores pre- matanza.....	16
1.4.1.3 Factores post- matanza	19
1.4.2 Estrategias genéticas para el mejoramiento de la terneza.....	22
1.4.3 Genes asociados a terneza	25
1.4.3.1 Gen de Calpaína.....	25
1.4.3.2 Gen PPARGC1A (Coactivador 1 alpha de receptores activados por proliferadores de peroxisomas gamma)	27
1.4.3.3 Gen de Miopaladina (MYPN)	28
1.4.3.4 Gen de Calpastatina (CAST)	29
CAPITULO 2: METODOLOGÍA.....	32
2.1 Objetivo General	32
2.2 Objetivos particulares.....	32

2.3 Hipótesis	32
2.4 Selección del ganado	33
2.5 Movilización del ganado	33
2.6 Matanza	34
2.7 Toma de muestras	34
2.8 Determinación de pH.....	35
2.9 Determinación de color	35
2.10 Determinación de fuerza de corte	35
2.11 Extracción de ADN	36
2.12 Genotipificación molecular de las muestras para su clasificación	36
2.13 Identificación de SNPs	37
2.14 Genotipificación de SNPs.....	38
CAPITULO 3: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
CONCLUSIONES.....	68
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXOS	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gel de poliacrilamida al 12% para la genotipificación de muestras de <i>Bos taurus</i> . MP) Marcador de peso, carriles 1-8) Muestras de <i>Bos taurus</i>	50
Figura 2: Gel de poliacrilamida al 12% para la genotipificación de muestras de <i>Bos indicus</i> . MP) Marcador de peso, carriles 1-8) Muestras de <i>Bos indicus</i>	50
Figura 3: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP G530A para <i>Bos taurus</i> , MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.....	52
Figura 4: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP C357G para <i>Bos taurus</i> , MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.....	52
Figura 5: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP G1795A para <i>Bos taurus</i> , MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.....	53
Figura 6: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP G1181A para <i>Bos taurus</i> , MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.....	53
Figura 7: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación del RFLP para SNP G530A en el grupo genético <i>Bos taurus</i> , MP) marcador de peso, C ⁺¹) control positivo para genotipo GA (heterocigoto), C ⁺²) Control positivo para genotipo GG (Ancestral) 1) Muestra 13, 2) Muestra 14, 3) Muestra 15, 4) Muestra 16, 5) Muestra 17, 6) Muestra 18.....	54
Figura 8: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación de RFLP para el SNP C357G para el grupo genético <i>Bos indicus</i> , MP) marcador de peso, 1) control positivo para genotipo CC, 2) Muestra 8, 3) Muestra 9, 4) Muestra 10, 5) Muestra 11, 6) Muestra 12.....	55
Figura 9: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación de RFLP para el SNP G1795A en el grupo genético <i>Bos indicus</i> , MP) marcador de peso, C ⁺¹) control positivo para genotipo GG, C ⁺²) Control positivo para genotipo AA, 1) Muestra 16, 2) Muestra 17, 3) Muestra 18, 4) Muestra 19, 5) Muestra 20, 6) Muestra 21.....	57
Figura 10: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación de RFLP para el SNP G1181A en el grupo genético <i>Bos indicus</i> , MP) marcador de peso, C ⁺¹) control positivo para genotipo GG, C ⁺²) Control positivo para genotipo GA, 1) Muestra 1, 2) Muestra 2, 3) Muestra 3, 4) Muestra 4, 5) Muestra 5, 6) Muestra 6, 7) Muestra 7.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la dieta de finalización empleada por la unidad comercial.....	33
Tabla 2: Primers empleados en la identificación de los SNPs.....	38
Tabla 3: Enzimas y condiciones para llevar acabo la digestión de los fragmentos de PCR	39
Tabla 4. Diseño experimeta para la evaluación de pH, color y fuerza de corte.....	39
Tabla 5. Diseño experimeta para la evaluación de los SNPs.....	40
Tabla 6. Efecto del grupo genético sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne.....	44
Tabla 7. Efecto del grupo genético sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne.....	46
Tabla 8. Efecto del grupo genético sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne.....	48
Tabla 9. Genotipificación con el marcador SRY de las muestras clasificadas como <i>Bos taurus</i> y <i>Bos indicus</i>	51
Tabla 10. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP G530A.....	55
Tabla 11. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP C357G.....	56
Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP G1795A.....	57
Tabla 13. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP G1181A.....	59
Tabla 14. Frecuencias genotípicas y alélicas para los SNPs.....	61
Tabla 15. Efecto del SNP G530A sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.	62
Tabla 16. Efecto del SNP C357G sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.	63
Tabla 17. Efecto del SNP G1795A sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.	64
Tabla 18. Efecto del SNP G1181A sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.	65

Tabla 19. Efecto de la sustitución alélica de cada SNP sobre sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler; I (intercepto), β_1 (coeficiente de regresión entre los genotipos de los diferentes SNPs y la fuerza de corte).....	67
Tabla A1: Valores de pH determinados a las 24 horas <i>post-mortem</i>	84
Tabla A2: Valores de pH determinados 1 días post- descongelación.....	86
Tabla B1: Valores de perfil de color (L, a*, b*) determinados a las 24 horas <i>post-mortem</i>	88
Tabla B2: Valores promedio de perfil de color (L, a*, b*) determinados 1 día post- descongelación.....	90
Tabla C1: Valores promedio determinados de fuerza de corte 1 día post- descongelación	92
Tabla D1: Valores ajustados de concentración de ADN.....	94
Tabla E1: Genotipos de cada SNP determinados mediante PCR-RFLP.....	96

INTRODUCCIÓN

La calidad de la carne es de gran importancia para la industria cárnica, principalmente la de ganado vacuno, en la que el consumidor está dispuesto a pagar más por productos de mayor calidad (Dekkers y Hospital, 2002; Shackelford *et al.*, 2001). Existen diferencias importantes en los rasgos de la calidad de la carne dentro de las diferentes clases de ganado. En particular, diferencias en la textura entre animales de distintas clases son parte importante para determinar las propiedades del músculo y el tejido conectivo, también para el contenido y composición de la grasa intramuscular (Marshall, 1999), estos parámetros son importantes para determinar la calidad de la carne. Se sabe que varias de estas características están bajo el control de genes específicos, evidencia que explica certeramente la existencia de una proporción significativa de la variabilidad fenotípica asociada a la calidad de la carne (Hocquette *et al.*, 2007). Por lo que se ha visto la necesidad de implementar métodos específicos para buscar, determinar y garantizar la calidad de la carne. Los métodos más recientemente empleados y cuya especificidad los convierte en una de las mejores alternativas para este fin, son aquellos en donde se emplean marcadores genéticos desarrollados en regiones específicas del genoma de la especie de interés, los cuales se encuentran asociados a parámetros específicos de calidad (Gill *et al.*, 2010). Esto ha dado lugar a la posibilidad de usarlos para mejorar características cuantitativas en la carne (Vries *et al.*, 1998; Casas, 2006).

Por medio de estudios genéticos basados en marcadores moleculares, se han logrado relacionar algunos SNP's como G530A (*calpaina*), C357G (*calpastatina*), G1795A (*miopaldina*) y G1181A (*PPARGC1A*) con el rasgo de terneza de la carne bovina. La consideración sobre la validación de estos marcadores en las diferentes condiciones de manejo es necesaria para asegurar la eficacia en su implementación para la selección de aquellos animales con las variantes genotípicas y alélicas favorables y/o desfavorables, esta estrategia tiene un gran potencial para dirigir el mejoramiento genético de las razas bovinas de carne en México y crear un mercado de la carne basado en las expectativas de calidad del consumidor.

CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO

1.1 Importancia del sector cárnico

La carne es el producto pecuario de mayor valor. Posee proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Desde el punto de vista nutricional, la importancia de la carne deriva de sus proteínas de alta calidad, que contienen todos los aminoácidos esenciales, así como de sus minerales y vitaminas de elevada biodisponibilidad (FAO, 2019).

El consumo de carne en el mundo desarrollado no ha registrado importantes variaciones, mientras que el consumo anual per cápita de carne en los países en desarrollo se ha duplicado desde 1980. El crecimiento demográfico y el incremento de los ingresos, junto con los cambios en las preferencias alimentarias, han producido un aumento de la demanda de productos pecuarios (FAO, 2019).

La producción mundial de carne para el 2019 se prevé que se sitúe alrededor de los 337 millones de toneladas, ligeramente inferior al nivel de 2018. Las perspectivas actuales apuntan a un avance constante de la producción de carne de bovino. Los pronósticos indican que el comercio mundial de carne y productos cárnicos supere las 35 millones de toneladas en 2019 (FAO, 2019). La producción de carne de bovino continuará liderada por Brasil, EE UU, UE y China, con previsiones de que China, India y América del Sur (México, Brasil, Argentina) aumenten todavía más su capacidad productiva hasta 2022. Por el contrario, tanto EE UU., como la UE, disminuirán su productividad hasta 2020 (Jareño, 2018).

La tendencia actual señala un aumento de precios a la producción en la mayoría de los países, con un índice mundial de precios constantes de forma decreciente, sobre todo en los mercados de mayor tamaño. China toma especial relevancia, pues ha reconocido no tener suficiente con las importaciones actuales para satisfacer su demanda y está apostando por abrir su mercado y sus accesos a otros países (Jareño, 2018).

El panorama mundial actual deja claro que el desarrollo de nuevas estrategias para la producción, distribución y comercialización de la carne bovina representa un desafío importante para el mantenimiento y crecimiento del sector cárnico.

1.2 Comportamiento actual del sector cárnico bovino nacional

México es un país con gran vocación ganadera; sus regiones agroecológicas han sostenido desde su comienzo, un grupo considerable de razas bovinas especializadas para producir básicamente leche y carne. En un estudio de diversidad zoogenética en México, (FAO-SAGARPA, 2012) indica que, en México el número de razas bovinas es considerable, identificando a 47 razas criollas y nativas debido a que aún en décadas recientes, han existido programas que incentivan la introducción de nuevas razas como estrategia para hacer más rentables los sistemas de producción nacionales (Parra *et al.*, 2011; Ramírez *et al.*, 2014).

La ganadería bovina productora de carne en México ha experimentado crecimiento sostenido que es explicado en función del aumento en la demanda de cárnicos. Derivado del incremento en las exportaciones y la disminución de las importaciones, la balanza comercial mexicana de carne de bovino pasó de un amplio déficit en 2007 a un saldo superavitario en 2016, de 52 mil toneladas (FIRA, 2017).

En diciembre de 2018, la producción nacional de carne de bovino fue de 179 mil 910 toneladas, con un acumulado de enero a diciembre de un millón 980 mil 205 toneladas, 2.8% más en comparación con mismo periodo del año anterior. En el último mes del año, la producción mensual del cárnico en la región sursureste generó 26.0% del total en el país; en dicha región destacan los estados de Veracruz con 44.6% y Chiapas (20.8%). Cabe destacar que Veracruz se situó en el primer lugar de producción a nivel nacional generando un total de 257,935 mil toneladas de enero a diciembre de 2018 (SIAP, 2019).

Las perspectivas Agrícolas OCDE-FAO 2016-2025, proyectan que de 2017 a 2025 la producción de carne de bovino en México crecerá a una tasa promedio anual de 1.5%. Para el mismo periodo, la expectativa de crecimiento para el consumo es de 1.3% anual. En cuanto a la participación de México en el comercio internacional, se estima que las exportaciones se incrementen a una tasa promedio anual del 2.2%, mientras las importaciones lo hagan a una tasa del 0.6% (FIRA, 2017).

1.3 Calidad de la carne

La calidad de la carne es una combinación adecuada de los atributos de terneza, jugosidad, sabor y color; en la actualidad, la industria de alimentos paga más por cortes de carne de alta calidad que aseguren, de esta manera, la satisfacción del consumidor (Vásquez *et al.*, 2007). Los factores que determinan la calidad de la carne están representados por el valor nutricional, las condiciones higiénico-sanitarias y las características organolépticas o sensoriales (Huerta, 2000; Vásquez *et al.*, 2002).

Valor nutricional: La carne roja contribuye a una dieta saludable por su contenido y concentración de nutrientes esenciales (Williamson *et al.*, 2005; McNeill y Van Elswyk, 2012). Hoy se considera que la carne es una “canasta” de nutrientes indispensables para la nutrición óptima y la salud preventiva (Cabrera *et al.*, 2010). La valorización a nivel comercial de la carne bovina está estrechamente ligada a su valor nutricional y funcional y a su importancia en la dieta.

Condiciones higiénico sanitarias: La carne de óptima calidad se obtiene en procesos que aplican las Buenas Prácticas a lo largo de toda la cadena de producción, con operaciones diseñadas para evitar que este alimento se contamine con sustancias o agentes indeseables, como son los agentes biológicos (Ray, 2010).

Características sensoriales de la carne: La combinación adecuada de los atributos de terneza, jugosidad, sabor y color están influenciados por varios factores como la especie, la raza y edad del animal, el manejo *ante-mortem* del mismo, los procesos de cosecha, el manejo de las canales durante el almacenamiento *post-mortem*, las características intrínsecas del músculo y tejido conectivo, la intensidad de proteólisis *post-mortem* en las células musculares y la temperatura de cocción de la carne (Pearson y Dutson, 1994).

1.4 Terneza

La terneza de la carne describe principalmente la fuerza requerida para romper una muestra de carne, siendo generalmente más deseable la carne más tierna. Los factores que influyen en la terneza son cruciales para determinar la palatabilidad general, por lo que actualmente se está llevando a cabo una extensa investigación en torno a estos en todo el mundo (Watanabe *et al.*, 1996; Hopkins y Thompson, 2002).

Una forma de medir la terneza es la apreciación subjetiva del consumidor o panelista capacitado quien asigna un puntaje para valorizar la terneza; sin embargo, el tejido conectivo y la cantidad de grasa intramuscular pueden influir en la puntuación. Una medida objetiva de la terneza es la fuerza requerida para cortar una pieza de carne, esta medición busca estandarizar los valores de corte deseables (Hopkins *et al.*, 2006). De los rasgos de calidad de la carne, la terneza se ve afectada por los factores de producción y procesamiento (Young *et al.*, 2005).

1.4.1 Factores que influyen en la terneza

1.4.1.1 Tipo de musculo

Los músculos tienen una composición particular en cuanto a tipos, cantidad de fibras musculares y de tejido conectivo, que a su vez pueden variar considerablemente en las distintas regiones del mismo (Totland *et al.*, 1988).

Existen pocos estudios en donde han evaluado la terneza a través del tejido conectivo intramuscular, constituido en su mayor parte por fibras que contienen colágeno de tipo I y III. Estas fibras colágenas son de suma importancia, ya que un elevado contenido de las mismas afecta tanto a la terneza como también al valor biológico de la proteína cárnica (Bosselmann *et al.*, 1995). El contenido de colágeno depende del músculo y del animal (raza, sexo, etcétera) mientras que el estado de las miofibrillas varía también por las condiciones *post-mortem* (Garriz, 2001).

1.4.1.2 Factores pre- matanza

Edad: En general, el aumento de la edad se correlaciona con la disminución de la terneza, la edad afecta principalmente la solubilidad del colágeno, se conoce que los animales jóvenes producen carne con mayor terneza debido a que tienen mayor proporción de colágeno soluble, el cual es destruido durante el proceso de cocción, en contraste, los animales maduros tienen mayor cantidad de colágeno insoluble que hace disminuir así la suavidad de la carne (Dufour *et al.*, 1996).

Sexo: Varios autores han reportado que la concentración de colágeno total suele ser más alta en los animales enteros (toros) que en novillos o vaquillas de la misma edad (Huerta y Ríos, 1993). Por otro lado, Cross *et al.*, (1984) lo atribuyen a la mayor complejidad del tejido conectivo y a la mayor concentración de testosterona en el animal sin castrar. Las hembras presentan menor cantidad de fibras que contienen colágeno de tipo I y III estos hallazgos coinciden con trabajos que indican una diferencia significativa en el contenido relativo de colágeno en la carne, cuando pertenecen a diferentes sexos de una misma edad. Además, las hembras presentan una carne más tierna que los machos en edades similares (Blanco, 2004).

Alimentación: En cuanto al tipo de alimentación se ha comprobado ampliamente que al incrementar el nivel energético de la dieta (granos) se obtiene una mayor ganancia de peso, mayor estado de engrasamiento y menor edad para la faena; que seguramente determinará mayor terneza (Blanco, 2004). Investigaciones realizadas comparan bovinos alimentados a base de pasto, pasto con suplementación con grano, o sólo con grano. De las mismas se desprende que las características favorables de la alimentación en base a granos de alto contenido energético, obedecen en parte, a un mayor engrasamiento de la res y de la carne. Por eso, los animales producidos a base de forrajes presentan reses con menos marmoleo, de color muscular más oscuro y rinden carnes menos firmes, de textura más áspera y menos tiernas que los animales producidos a base de granos (Huerta *et al.*, 1997). Un alto plano nutricional y un rápido crecimiento provocan un alto índice de síntesis de colágeno. El nuevo colágeno sintetizado diluye el antiguo colágeno estable al calor, haciéndolo en promedio más inestable, resultando de esta forma un músculo con mayor terneza (Monteiro y Peluff, 2001).

Genética: Algunas estimaciones indican que el efecto aditivo o genético controla el 30% de la variación de terneza y el 70% restante puede verse afectado por factores ambientales no aditivos. Riley *et al.* (1986), Crouse *et al.* (1989) sostienen que el ganado *Bos indicus* tiene carne menos tierna que el ganado *Bos taurus*, esto tendría que ver con el proceso de proteólisis del músculo. Este proceso enzimático se le ha atribuido a unas proteasas, denominadas calpaínas que inciden en el ablandamiento de la carne *post-mortem*. Un inhibidor enzimático de las calpaínas, denominado

calpastatina, también juega un papel fundamental en este proceso (Koochmaraie *et al.*, 1991; Koochmaraie, 1992), ternura y actividad de calpastatina son características de heredabilidad moderada a alta (Koch *et al.*, 1982). Wheeler *et al.* (1994), sostienen que los animales *Bos indicus* presentan niveles inferiores de marmoleo (grasa intramuscular) que los animales *Bos taurus* y esa sería una de las razones de la dureza de la carne del ganado cebuino.

La variabilidad de la ternura dentro de las razas es importante y se ha demostrado que ciertas líneas del ganado *Bos indicus* muestran carnes satisfactoriamente blandas. Entre los *Bos taurus* estas diferencias se producen de acuerdo con la precocidad de las mismas; las razas más tardías tienen mayor desarrollo muscular y limitado desarrollo del tejido graso (Blanco, 2004).

El hecho de que la ternura aumente con el desarrollo muscular es una cuestión aún no claramente establecida, hay diferencias entre los investigadores europeos y los norteamericanos. Los primeros sostienen la teoría de que a medida que una raza tiene mayor desarrollo muscular, la ternura de su carne aumenta, esto estaría explicado por una relación inversa entre el primer factor y el tenor de colágeno. La tasa de grasa intramuscular y el tenor de colágeno difieren entre razas, éstos aspectos podrían contribuir a explicar alguna variación racial en la ternura (Blanco, 2004).

Efectos de manejo: El ganado pasa por una serie de fases en su camino de una granja a un matadero. Comúnmente, estas fases incluyen 1) ayuno, 2) traslado y 3) recepción en el matadero. Todos los animales faenados pasan tiempo en reposo en los mataderos, este periodo varía según el procesador y el orden de matanza, ante esta situación los animales enfrentan situaciones estresantes lo cual altera el metabolismo dependiendo del tipo de estrés (Ferguson y Warner, 2008). Esto puede llevar a un agotamiento significativo de glucógeno muscular (Warriss, 1990), y si el nivel cae a 45 - 57 mmol/kg, entonces no se alcanzará un pH final "normal" cuando el animal es faeneado (Tarrant, 1989). Esto conducirá a aumentos en la dureza específicamente en un pH de 6.0 (Purchas *et al.*, 1999).

En los cerdos, se ha demostrado que el uso de golpes eléctricos y otros factores, como la densidad de población, tienen un impacto en el pH de la carne y, a menudo, esto causará un aumento de las tasas de glucólisis (Brandt y Aaslyng, 2015), lo que potencialmente conduce a un aumento de la desnaturalización proteica y ablandamiento reducido. Jacob *et al.* (2005) informaron un impacto mínimo en la ternura de carne de ovino, cuando estas se mantuvieron en reposos en el corral durante 48 h. Sin embargo, en un estudio con ovinos adultos mantenidos en el corral de un matadero, Toohey y Hopkins (2006), mostraron que había una interacción significativa entre el tiempo de reposo y la estimulación eléctrica, de modo que la carne no estimulada era más dura en los animales retenidos en corral durante 2 días en comparación con los retenidos durante 1 día. En balance, parece que el efecto del pH elevado debido a factores previos a la matanza tiene un impacto importante en el ganado, y la ternura de la carne obtenida de este.

1.4.1.3 Factores *post- matanza*

La composición del músculo, en donde las cantidades y el tipo de tejido conectivo son constantes, puede haber diferencias considerables en la ternura causada por las circunstancias posteriores a la matanza, el más inmediato de estos es la glucólisis *post- mortem*.

Glucólisis *post - mortem*: Una vez realizada la matanza y desangrado un animal finaliza el flujo de oxígeno al músculo, siendo la poca cantidad remanente en estos tejidos rápidamente consumido (Belitz y Grosch, 1985). Bajo estas condiciones anaerobias el ciclo de Krebs se encuentra detenido. La necesidad de energía lleva a las células a consumir el ATP existente con rapidez, y a reponer el mismo usando ahora la vía glicolítica anaerobia. En este proceso por cada molécula de glucosa se generan dos moléculas de ATP y dos moléculas de piruvato (Chacon, 2004). Posteriormente, la enzima denominada lactato deshidrogenasa cataliza una reacción que integra un hidrógeno a la molécula de piruvato generando ácido láctico. La generación del ATP por esta vía continúa hasta el agotamiento del glucógeno. A medida que se alcanza este punto, se va presentando un descenso en el pH muscular

a consecuencia de la acumulación de ácido láctico, llegando hasta valores aproximados de 6.5 o inclusive por debajo de 5.8 (Belitz y Grosch.1985).

La contracción y relajación muscular requieren del ATP como fuente energética. Antes de que una molécula de miosina pueda liberarse de la actina durante la contracción del sarcómero, es requerido el ATP. Al agotarse el ATP, la miosina se mantiene adherida a la actina aún si el músculo está tratando de relajarse (Chacón, 2004). Como consecuencia al agotarse el ATP producido por la glicólisis anaerobia el músculo se endurece notablemente, estado que se denomina rigor mortis y que se alcanza entre las 10 y 24 horas posteriores a la muerte (Belitz y Grosch.1985). La caída del pH tiene influencia directa en la capacidad de retención del agua del músculo la cual es menor a bajos pH. Este descenso también altera las interacciones entre las proteínas miofibrilares afectando la fragmentación de las mismas y por ende la dureza final (Chacón, 2004).

Estimulación eléctrica. Se ha demostrado que su empleo minimiza el “acortamiento por frío” y mejora la terneza de la carne. Este efecto se debe a un rompimiento de la miofibrillas y membranas mediante la descarga eléctrica, lo que provoca la liberación temprana de las enzimas dependientes de calcio (calpastatinas/calpaínas) (Tornberg, 1996). La estimulación eléctrica acelera la glucólisis *post mortem* y la puesta del *rigor mortis*, y ha sido adoptado en el proceso de la matanza, como un método eficaz para mejorar la terneza (Geesink *et al.*, 1994). Sin embargo, Hertog *et al.* (1997), concluyeron que el efecto de la estimulación eléctrica tiene un efecto negativo sobre la capacidad de retención de agua y desnaturalización de las proteínas sarcoplasmicas. El tiempo de aplicación debe ser de 1 minuto, controlando el amperaje (0.5 a 1 A) y 100 volts, por el riesgo que conllevan los altos voltajes en el punto de aplicación (sangrado).

Enfriamiento de las canales. La relación de tiempo/temperatura durante el enfriamiento de las canales de bovino, tiene un fuerte efecto sobre la terneza de la carne, una mala práctica produce “acortamiento por frío” (Tornberg, 1996). La severidad del enfriamiento, está relacionado con el tamaño de la canal y la falta de grasa de cobertura (canales magras), y varían en amplios rangos, dependiendo de la

carga y condiciones de la cámara de refrigeración (velocidad de aire, temperatura y humedad relativa) (Greer y Jones, 1997).

Maduración: La carne lista para el consumo se obtiene después de un cierto tiempo de almacenamiento en refrigeración (0 - 5 °C), tras el cual la carne resulta más tierna y jugosa (Carballo y López, 1991). Para una maduración correcta es importante que exista una adecuada acidificación de la carne (pH de 5.4 a 5.8). Los mayores problemas durante la maduración consisten en el espacio de refrigeración requerido y en la apreciable pérdida de peso que tiene lugar a menudo (Pearson, 1986).

Se acepta, generalmente, que existe una proteólisis del tejido conectivo y de las fibras musculares durante la maduración debido a la presencia de proteinasas endógenas del músculo. También la proliferación microbiana puede contribuir con enzimas exógenas a la hidrólisis de diferentes proteínas de la carne. Mediante microscopía electrónica de transmisión se ha observado una evidente ruptura de la línea Z en la carne madurada. Se piensa que estas enzimas juegan un papel fundamental; sin embargo, el grado de proteólisis ha sido menor del que cabría esperar por el incremento de ternura observado, pero incluso menores cambios en la estructura de las proteínas pueden causar mayores alteraciones en sus propiedades físicas (Onega, 2003).

Algunos autores han discutido la estructura y función del colágeno y su comportamiento durante la maduración. Sugieren que la cantidad de enlaces inter- e intramoleculares pueden alterar las propiedades del músculo, especialmente la ternura. Se sabe que ciertas enzimas hidrolizan el colágeno y podrían jugar un papel importante alterando las propiedades del tejido conectivo durante la maduración (Onega, 2003).

Tenderizado (enzimas no cárnicas y mecánico). Es un método para mejorar la calidad de la carne, aunque con este proceso puede llegarse a transformar la carne fresca en procesada. El uso de enzimas orgánicas como la papaína, bromelina y ficina (marinadores) producen ablandamiento de la carne y mejoran la ternura. Por otro lado, en el mercado de la industria cárnica existen equipos tenderizadores que

permiten romper mecánicamente las fibras musculares y proveer “terneza mecánica” o sensación organoléptica de terneza y jugosidad de la carne. Este proceso puede ser utilizado sobre todo hacia el centro y sur del país donde se acostumbra adelgazar la chuleta o filetear la carne de res y cocinarlo lentamente en jugo (Martínez, 2012).

1.4.2 Estrategias genéticas para el mejoramiento de la terneza

El desarrollo de la biotecnología genómica ha sido promovido como una realidad necesaria en México, dentro de cuyos objetivos se encuentra el desarrollo, establecimiento e implementación de técnicas y métodos moleculares en beneficio de los sistemas pecuarios del país, como el de producción de carne que aunque con un crecimiento de 2.3% anual (Torres, 2011) que requiere de fomento para el mejoramiento de los hatos ganaderos.

Marcadores genéticos

Son regiones específicas del ADN donde se ha encontrado variación que se asocia positiva o negativamente con un rasgo de interés (Sifuentes y Parra, 2011). Los marcadores pueden o no estar dentro del gen, lo que los convierte en una herramienta disponible para la cría animal (Casas, 2002). Actualmente, se cuenta con marcadores de relativa facilidad de implementación y muy informativos como los microsatélites (STRs por sus siglas en inglés) y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), entre otros (Casas, 2002; Garrick y Johnson, 2003).

En el análisis genético de caracteres cuantitativos, existen dos tipos de marcadores genéticos con información polimórfica que pueden ser usados para fomentar los programas de mejora genética en animales, los marcadores genéticos, aparentemente no funcionales ligados a QTLs conocidos como marcadores indirectos de tipo II, y las mutaciones causales o marcadores directos tipo III (O'Brien *et al.*, 1999; Dekkers y Hospital, 2002).

- Marcadores de tipo II microsatélites hipervariables (también llamados repeticiones cortas en tandem, short tandem repeats, STRs), son altamente informativos en evaluaciones de pedigrí, forenses y de población, debido a que

existen cerca de 100,000 STRs distribuidos aleatoriamente a lo largo del genoma de los mamíferos, ya que incluyen múltiples alelos en sí mismos (O'Brien *et al.*, 1999), estos marcadores han sido llamados indirectos o ligados, debido a que su ubicación ofrece sólo información indirecta sobre el efecto de un gen (Van der Werf y Kinghorn, 2000).

- Marcadores de tipo III, son polimorfismos comunes, dialélicos, de un solo nucleótido (SNPs) dentro de las regiones codificantes (exones), o más frecuentemente en intrones, regiones intragénicas no codificantes. Los SNPs, ocurren una vez cada 500 a 1000 pares de bases en el genoma humano, totalizando un estimado de 3 millones de SNPs en humanos y mamíferos de diversidad genética comparable (O'Brien *et al.*, 1999). Son llamados mutaciones puntuales o funcionales cuando se asocian a algún carácter de interés (Dekkers y Hospital, 2002). Estas variantes, pueden consistir en transiciones (cambios de purina por purina o pirimidina por pirimidina) o transversiones (cambios de purina por pirimidina y viceversa), con una probabilidad más alta de ocurrencia en las transversiones (Vignal *et al.*, 2002). Actualmente, al ser verificada su asociación son llamadas Nucleótidos de Características Cuantitativas (QTN, por sus siglas en inglés) (Allan y Smith, 2008).

La transmisión de un marcador genético del padre a su cría puede ofrecer información sobre la herencia de una región del cromosoma que rodea al marcador, y que puede abarcar algún QTL o QTN. El conocimiento de la transmisión del marcador puede proveer información sobre la probabilidad del mérito genético de las crías (Garrick y Johnson, 2003). Y aunque, la selección de los animales puede basarse solamente en información de los marcadores genéticos, la información del marcador puede omitir el efecto de otros genes, que igualmente pueden afectar la característica de interés. Por lo tanto, una selección óptima debe considerar el efecto poligénico, más que de un solo QTL y estar basada en información del fenotipo del animal. El tipo de selección que se apoya con información de los marcadores genéticos es llamada selección asistida por marcadores moleculares (MAS, por sus siglas en inglés; Van der Werf y Kinghorn, 2000).

Uso de los marcadores moleculares en la ganadería

La caracterización genómica por medio de los marcadores genéticos tiene como principal fin la identificación de la variación o variabilidad de las poblaciones. En este sentido, la disponibilidad de marcadores genéticos de diferente naturaleza pueden avocarse al estudio de las poblaciones ganaderas locales con dos propósitos primordiales, 1) Realizar estudios de diversidad, identificando la variabilidad inter e intra poblacional, con la ventaja adicional de consolidar un panel de marcadores (por ejemplo microsatélites) para sostener estudios de identidad o asignación/verificación de paternidad y maternidad; y 2) Cuantificar frecuencias genotípicas y alélicas en regiones genómicas y/o genes (por ejemplo genes candidatos) que están o eventualmente pudieran estar asociados con características fenotípicas de interés comercial que justifiquen su implementación a través de la inicialmente llamada, selección asistida por marcadores (SAM) y que alternativamente puede ser llamada como manejo asistido por marcadores (MAM) debido a las limitantes que conlleva su utilización como única herramienta de selección (Allan y Smith, 2008).

La selección asistida por marcadores moleculares (SAM) 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, 2006). Es importante considerar que este procedimiento tiene mayor potencial para características con baja heredabilidad (características en las que la medición individual es predictor inexacto debido a la alta influencia ambiental), difíciles o caras de medir, que no son seleccionadas debido a que rutinariamente no son medidas (características de la canal como suavidad), y que son características correlacionadas con otras que no se quieren mejorar (Van Eeenenam, 2006).

La SAM tiene como finalidad complementar los programas de mejoramiento genético basados en la estimación de valores genéticos, DEPs (Diferencias esperadas en la progenie) de tal forma que la información molecular es incluida en el proceso de estimación de valores genéticos (Allan y Smith, 2008). Sin embargo, la falta de información sobre marcadores que expliquen significativamente la mayor proporción de

variabilidad genética sobre características de interés (sometidas a evaluaciones genéticas y estimación de DEPs) ha limitado su implementación (Dekkers, 2004).

La implementación de la SAM y el MAM posee ventajas relativas, en los siguientes años el conocimiento que pueda generarse con los estudios de asociación de genoma completo mediante la genotipificación masiva por medio de arreglos de miles de SNPs demostrará el verdadero potencial de la SAM y el MAM, una vez que el genoma sea caracterizado y sean identificadas más variaciones que significativamente afecten el fenotipo (Allan y Smith, 2008).

En México, el efecto en la implementación de marcadores genéticos, es hasta ahora limitado. Sin embargo, se conoce al menos la frecuencia en la que las variantes favorables se presentan en algunas poblaciones y razas bovinas, lo que ayuda a inferir las ventajas de contar con esta información. Los genes con SNPs que han sido estudiados y reportados durante la última década son Miostatina, Calpaína, Tiroglobulina e IGF-I (Parra *et al.*, 2011). Sin embargo, existen muchos otros genes con posible asociación e influencia sobre características de relevancia, como la terneza, que buscan el incremento de la calidad de la carne.

1.4.3 Genes asociados a terneza

1.4.3.1 Gen de Calpaína

Las calpaínas constituyen una amplia familia de proteinasas intracelulares citosólicas dependientes de calcio, cisteínas específicas y presentes en muchas isoformas, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en todos los tejidos y muestran una actividad regulada a valores de pH fisiológico (Sorimachi *et al.*, 1997; Suzuki *et al.*, 1998; Ono *et al.*, 1998). En mamíferos se encuentran omnipresentes en todos los tejidos, siendo sus características generales variables según la especie y ubicación.

Dentro de este grupo de proteínas se han identificado dos isoformas asociadas a la terneza de la carne, m-Calpaína y μ -Calpaína, ya que éstas actúan durante la maduración *post mortem* de la carne (Morgan *et al.*, 1991; Koohmaire, 1992; Soria *et al.*, 2004). Estas isoformas difieren en cuanto a la cantidad de calcio que requieren para actuar, mientras

que la μ -Calpaína requiere una concentración de calcio micromolar, la m-Calpaína actúa a concentraciones milimolares (Suzuki *et al.*, 1998). Ambas calpaínas son proenzimas no activas, que se autolisan produciendo proteínas activas en presencia de calcio. Ambas degradan la mayoría de las proteínas miofibrilares, mostrando su actividad durante los primeros 7 a 10 días *post mortem* a 2-4°C (Goll *et al.*, 2003). Sin embargo, aunque ambas isoformas son muy parecidas, varios autores señalan a la calpaína I (μ -calpaína) como la principal enzima involucrada en la terneza de la carne debido a las concentraciones de calcio a las cuales se activa (Kroohmaraie, 1994; Illian *et al.*, 2001; Houbak *et al.*, 2008).

En bovinos, el gen de calpaína está localizado en el cromosoma 29, estructuralmente, tiene 30 kb, contiene 22 exones y 21 intrones (Page *et al.*, 2002). Se han logrado identificar más de 100 polimorfismos de nucleótidos en este gen en *Bos taurus* y recientemente en *Bos indicus* (Smith *et al.*, 2000; Page *et al.*, 2002; Juszczyk *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha demostrado que de todos estos polimorfismos, sólo 5 de ellos están asociados a características de calidad de la carne (Page *et al.*, 2002). De los cinco marcadores se ha reportado que dos de ellos C316 y C530, presentan mayor influencia en la terneza de la carne ya que estos están situados en exones lo cual afecta la funcionalidad de la proteína. Por otro lado, se han realizado estudios para destacar la posible relación que estos marcadores pudieran tener con la subespecie bovina y se encontró que el marcador C-530, que provoca un cambio de adenosina por guanina en la posición 530 (GTC/ATC) dando como consecuencia el cambio de aminoácido; de valina por isoleucina, es el que aparenta tener mayor influencia (Page *et al.*, 2002).

De acuerdo a los resultados obtenidos por diferentes autores, se ha demostrado que el genotipo está altamente relacionado con la raza, en muchos de los estudios realizados el genotipo más frecuente fue el normal; sin embargo, se comprobó que en aquellos animales que mostraron la presencia del SNP estudiado, los valores de terneza de la carne producida eran mayores en comparación con aquellos que no mostraron el SNP (White *et al.*, 2005; Gill *et al.*, 2009; Frylinck *et al.*, 2009).

1.4.3.2. Gen PPARGC1A (Coactivador 1 alfa de receptores activados por proliferadores de peroxisomas gamma)

El estudio del gen PARGC1A lo propone como uno de los reguladores centrales de la adipogénesis. Este gen puede regular la diferenciación adipogénica resultando en un incremento en el contenido de grasa intramuscular, este hecho sugiere que la activación del gen PPARGC1A puede tener una fuerte relación con la terneza de la carne, además se le atribuye gran responsabilidad en el metabolismo de energía, glucosa y grasa lo cual también lo señala como responsable del contenido de grasa en la leche obtenida de los bovinos (Tiande *et al.*, 2014).

El presente gen se encuentra en el cromosoma 6 del genoma bovino, está organizado en 13 exones comprendidos en 6.261 pb y es expresado en diferentes niveles en un gran número de tejidos. Tiene una similitud del 92 - 95% en su secuencia proteica con respecto a la secuencia del humano, el ratón y la rata, además está implicado en el desarrollo de la obesidad. En los bovinos está implicado en la síntesis de grasa de la leche y se le asocia con el metabolismo durante la lactancia. Y en el humano se relaciona con las concentraciones de insulina (Weikard *et al.*, 2005). De acuerdo con la secuenciación que se ha realizado de este gen, existen 11 polimorfismos comprendidos tanto en las regiones codificantes como en los promotores del gen, estos estudios se llevaron a cabo en paneles multirraciales de bovinos, sugiriendo que los polimorfismos hallados pueden tener un rol importante en el contenido de grasa tanto en leche como en músculo (Weikard *et al.*, 2005).

En el estudio realizado por Weikard *et al.* (2005), se mapeo completo el gen PPARC1A encontrándose los polimorfismos anteriores, estos polimorfismos fueron estudiados en una población de ganado Holstein. Soria *et al.* (2009) quien estudió dos polimorfismos más situados en el exón número 8, una transición G/A (en la posición 1181) y una transversión A/T (en la posición 1299). El polimorfismo 1181 corresponde a una sustitución no conservativa (AGT/AAT) que causa la sustitución del aminoácido serina por asparagina en la posición 364 de la proteína resultante. La frecuencia en particular encontrada de este polimorfismo fue relacionada con el ganado *Bos indicus*, estableciéndolo como un posible marcador exclusivo de esta raza, justificando así las

importantes diferencias en cuanto a la composición de la carne proveniente de esta subespecie en comparación con la del ganado *Bos taurus*.

1.4.3.3. Gen de Miopaladina (MYPN)

El gen de la MYPN en la subespecie *Bos taurus* está ubicado en el cromosoma 28, con una longitud de 88,151 pb. En él se encuentra la codificación para la proteína del mismo nombre cuyo mRNA está conformado por 5,257 nucleótidos, la miopaladina tiene múltiples funciones en los ensamblajes de proteínas de la línea Z y la banda I (Bang *et al.*, 2001; McElhinny *et al.*, 2003). Estas interacciones proporcionan un mecanismo para unir con precisión todos los sistemas conocidos de filamentos en la línea Z. Por otro lado, el gen de MYPN se une a la repetición de proteína anquirina cardíaca (CARP), un regulador de la transcripción involucrado en el control de la expresión en músculo (Bang *et al.*, 2001; Mestroni, 2009). La sobreexpresión de la región de unión de la repetición de la proteína CARP de miopaladina podría provocar interrupción severa de los componentes sarcoméricos. Esto sugiere que la organización miofibrilar está relacionada con la expresión génica en músculo a través de la interacción de miopaladina con CARP (Bang *et al.*, 2001; Knöll *et al.*, 2002). Por lo anterior los SNPs de este gen parecen ser buenos candidatos para ser empleados como marcadores moleculares para características de calidad de la carne en bovino.

Hasta el momento el mayor conocimiento de la acción del gen de la MYPN en lo que en términos de calidad de la carne se refiere, está limitado a los estudios realizados por Jiao *et al.* (2010), al encontrar el SNP A1795G traducido hasta ahora como una mutación sinónima del aminoácido serina, detectada por la acción de la *Taq1* en el sitio de restricción (T[^]CGA) y la cual ha sido asociada a ciertas características fenotípicas como son el área del ojo del lomo y la capacidad de retención del agua.

Los fragmentos de restricción encontrados involucran a tres genotipos de “mutación A>G” dos genotipos homocigotos AA y GG y un genotipo heterocigoto AG. En el estudio previo de Jiao *et al.* (2010), reportaron las frecuencias alélicas para la base nitrogenada A que van de 0.3977 hasta 0.7358 y las frecuencias alélicas para G desde 0.2642 a 0.602.

Estas frecuencias alélicas deben ser tomadas en consideración ya que la baja frecuencia alélica de G pareciera estar relacionada con las características fenotípicas manifiestas y con la calidad de la carne en ganado, así como también lo ha sido en cerdos.

A pesar de que hasta la fecha no se dispone de mayor información sobre el polimorfismo del gen MYPN en bovinos, si no exclusivamente a lo reportado por Jiao *et al.* (2010), puede asumirse que en base a las importantes funciones de la proteína miopaldina en el mantenimiento de la integridad estructural y funcionabilidad del sarcómero, el gen MYPN resulta ser un atractivo candidato como marcador molecular a través de SNPs situados en él, para características de calidad de carne en bovinos, así como ha sido reportado en el caso del gen calpaína y los diferentes polimorfismos estudiados en él (White *et al.*, 2005).

1.4.3.4. Gen de Calpastatina (CAST)

La calpastatina es una enzima inhibidora de las calpaínas, principales enzimas proteolíticas del músculo esquelético. Está codificada por el gen CAST, a partir del cual se pueden expresar cuatro isoformas proteicas diferentes debido a la existencia de cuatro promotores distintos (Motter *et al.*, 2009).

La calpastatina aislada de músculo esquelético de bovino tiene 706 aminoácidos (Killefer y Koohmaraie, 1994) y está organizada en cuatro dominios (I a IV) formados por secuencias repetidas de 140 aminoácidos, entre los cuales existe una homología del 23 al 36%. Cada dominio contiene tres subdominios (A, B y C), a través de los cuales se une a las calpaínas. El subdominio B posee alta homología entre especies y es esencial para la actividad inhibidora (Goll *et al.*, 2003). Se ha demostrado que el tetrapéptido Glu10, Leu11, Gly12, Lys13 del subdominio IB de calpastatina forma un loop que es esencial para la unión a la μ -calpaína (Pfizer *et al.*, 2008).

Diversos estudios cinéticos han demostrado que la calpastatina es un inhibidor competitivo de dos proteasas dependientes de Ca^{2+} , la μ -calpaína y la m-calpaína (Eimori *et al.*, 1988). En presencia de Ca^{2+} una molécula de calpastatina puede inhibir hasta

cuatro moléculas de calpaína (Cong *et al.*, 1998). 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 de la matanza los niveles de calpastatina son altos, la carne será menos tierna (Sensky *et al.*, 2001).

La magnitud de la proteólisis *post-mortem* determina la ternura de la carne (Geesink y Koochmaraie, 1999) y este proceso también está asociado a la raza del animal. La carne de animales *Bos indicus* generalmente posee menor ternura que la obtenida de animales de razas *Bos taurus* (Shackelford *et al.*, 1995). Por otro lado, a medida que aumenta la proporción de genética de origen índico en un animal disminuye la ternura de la carne, lo que se relaciona con mayor actividad de calpastatina y menor actividad de μ -calpaína (Pringle *et al.*, 1997). Esta evidencia de efectos genéticos entre razas se aplica también a la variación intrarracial y puede ser justificado por diferencias a nivel molecular (en el ADN).

La existencia de varios polimorfismos en diferentes regiones del gen CAST se han reportado, pero no se ha demostrado un efecto significativo sobre la ternura de la carne (Corva *et al.*, 2007; Zhou y Hickflord., 2008; Juszczuk *et al.*, 2008). Sin embargo, los polimorfismos en las regiones no codificantes del gen podrían tener un efecto en los niveles de expresión del mismo, si se localizan en el promotor y otras regiones reguladoras. Estos polimorfismos con efecto sobre la expresión podrían justificar las diferencias en actividad de calpastatina entre *Bos indicus* y *Bos taurus* (Pringle *et al.*, 1997).

La caracterización de los promotores I y III en razas índicas se ha iniciado mediante la comparación de secuencias obtenidas de toros de razas Angus, Brangus y Brahman (Krause *et al.*, 2008). Hasta el momento, en el promotor I se identificaron siete polimorfismos, de los cuales tres fueron hallados en toros de raza Brahman. Sin embargo, el análisis de las secuencias obtenidas permitió determinar que dichos SNPs no alteran sitios TFBS en el promotor I. En el promotor III se identificaron cuatro SNPs, según estos resultados, los SNPs identificados en el promotor I no serían responsables de diferencias raciales en la expresión de calpastatina ya que no modifican TFBS, en tanto que los hallados en las secuencias obtenidas del promotor III, podrían potencialmente afectar la

regulación de la expresión de calpastatina. Por lo tanto, los polimorfismos identificados especialmente en el promotor III en la raza Brahman, podrían indicar la existencia de variabilidad entre razas (Motter *et al.*, 2009). De acuerdo a lo anterior, Juszczuk *et al.* (2009), sugieren que la presencia de polimorfismos en el exón 1u, asociado al promotor III, que conduce la expresión de las calpastatinas en todos los tejidos, pueden tener influencia sobre la expresión de este gen y la actividad de las proteínas.

CAPITULO 2: METODOLOGÍA

2.1 Objetivo General

Determinar, mediante la identificación de SNP'S a través de PCR-RFLP, la existencia de una asociación entre los polimorfismos de interés y el rasgo de terneza que presentan las subespecies de ganado bovino *Bos taurus*, *Bos indicus* y *Bos taurus x Bos indicus*, para establecerlos como posibles marcadores genéticos de importancia productiva.

2.2 Objetivos particulares

1. Selección de muestras de ganado bovino, mediante reconocimiento de características fenotípicas definidas para su clasificación por subespecie.
2. Medición de parámetros de calidad (pH, color, fuerza de corte) en las muestras seleccionadas mediante potenciómetro, colorímetro y Warner-Bratzler, para su posterior relación con el fenotipo y genotipo.
3. Estandarización de las técnicas moleculares (PCR y RFLP) tanto para la genotipificación de las subespecies como para la determinación de polimorfismos.
4. Análisis genotípico de las muestras a estudiar mediante la técnica de PCR-RFLP para la clasificación de subespecies.
5. Determinación de los polimorfismos de interés en las diferentes subespecies mediante PCR-RFLP, para establecer la posible asociación entre el fenotipo y el genotipo.

2.3 Hipótesis

Los genotipos y alelos favorables de los SNPS G530A (calpaína), C357G (calpastatina), G1795A (miopaladina) y G1181A (PPARGC1A) asociados con la terneza de la carne presentaran diferentes frecuencias entre los grupos genéticos *Bos taurus*,

Bos indicus, *Bos taurus x Bos indicus*, estableciendo así una posible asociación entre a fuerza de corte y el grupo genético.

2.4 Selección del ganado

El trabajo de investigación se llevó a cabo en una unidad comercial de finalización en corral de bovinos, localizada al sur del estado de Veracruz a 10m sobre el nivel del mar. Se utilizaron 90 bovinos alojados en corrales, y fueron clasificados en *Bos taurus*, *Bos indicus* y *Bos taurus x Bos indicus*, basados en las principales características reportadas por Rubio *et al.* (2013) en la guía práctica para la estandarización y evaluación de las canales bovinas mexicanas. Los animales seleccionados fueron machos enteros, con un peso promedio de $470 \pm 20\text{kg}$, edad de 1.6 – 1.8 años, alimentados con la dieta final establecida por la unidad de comercialización (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de la dieta de finalización empleada por la unidad comercial.

INGREDIENTES	%
Maíz rolado	76.7
Salvado de trigo	5
Paca de cebada	4.5
Melaza	4
Pasta de soya	4
Aceite de soya	3.3
Premezcla mineral inorgánica	2.5

Composición: materia seca (87.71%), Energía metabolizable (2.34Mcal/kg), proteína cruda (12.88%), extracto etéreo (7.32%), cenizas (4.56%), FDN (12.67%), Ca (5.75 g/kg), Mg (2.35 g/kg), cobre (16.42 mg/kg), selenio (0.06mg/kg), zinc (43.41 mg/kg).

2.5 Movilización del ganado

Los animales seleccionados fueron marcados colocándoles una franja de aerosol color rojo en el dorso para su posterior embarque y traslado en un transporte especializado, el destino del transporte fue el rastro Tipo Inspección Federal (TIF) No. 353, ubicado en el Km 2.5, carretera Paso San Juan, Veracruz. Este proceso de movilización es llevado a cabo por la unidad comercial bajo el cumplimiento de la Norma

Oficial Mexicana denominada “Trato humanitario en la movilización de animales”, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26/marzo/1996 (NOM-051-ZOO-1995).

2.6 Matanza

Los animales fueron sacrificados en el rastro TIF 353, bajo los lineamientos establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG-ZOO-2014, “Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres”, publicada en el Diario Oficial de La Federación el 26/agosto/2015 (NOM-033-ZOO-2014).

Las canales obtenidas fueron divididas longitudinalmente obteniendo media canal derecha y media canal izquierda, esto se realizó por cuestiones de manejo, mercadeo y comercialización. Las medias canales fueron almacenadas de manera aleatoria en cámaras de refrigeración por 24 h a temperatura de 0 - 4°C, posteriormente fueron procesadas en la sala de despiece.

2.7 Toma de muestras

La toma de las muestras se realizó 24 h después de refrigerada la canal. La toma de la muestra se realizó en el área de empaque que se encontraba a una temperatura de 2°C, de cada media canal izquierda se obtuvo un corte a nivel de lomo, este corte se realizó a partir de la 13^a vertebra torácica hacia la parte frontal de la media canal, cada corte obtenido tuvo un espesor de 5cm y un peso promedio de 250g. En el área de empaque se realizaron también determinaciones de pH y color del corte y se tomó una pequeña porción de 250 mg para su empleo en los análisis moleculares, estas muestras fueron conservadas en tubos eppendorf con 1 ml trizol® (Invitrogen, Carlsbad, Ca, EE.UU.). Los cortes obtenidos fueron etiquetados, empacados al vacío y mantenidos a - 20°C junto con las muestras en trizol® hasta la realización de los análisis correspondientes.

2.8 Determinación de pH

La determinación de pH se llevó a cabo a las 24 horas post- matanza en la zona de empaque y también a 1 día post- descongelación previo a la determinación de fuerza de corte, el método que se siguió en ambos casos fue el mismo.

La toma de pH se realizó en tres puntos diferentes de los cortes de carne empelando un potenciómetro portátil para carne H199163 (Hanna instrumets, Eibar, SS) acoplado a una cuchilla de acero inoxidable y calibrado a tres puntos con soluciones estándar a valores de 4.0, 7.0 y 10.0, de acuerdo con Nair *et al.* (2014).

2.9 Determinación de color

La medición de color al igual que de pH se realizó a las 24 horas post- matanza en el área de empaque y 1 día post- descongelación, se determinaron parámetros de perfil de color de acuerdo al sistema CIELab, el cual se basa en un sistema tridimensional definido por tres coordenadas L*(luminosidad), a*(componente rojo) y b*(componente amarillo) (CIE, 2004).

La determinación se llevó a cabo de acuerdo al protocolo descrito por la *American Science Association* (AMSA, 2012), utilizando un espectrofotómetro portátil CR-300 Konica Minolta Chroma (Minolta Co. Ltd., Japón) con iluminate D65, tamaño de apertura de la esfera de 2.5 cm, ángulo de observación estándar de 10°C tomando 8 mm de diámetro como área de medición. El espectrofotómetro fue calibrado con los mosaicos blanco y negro, los cortes fueron expuestos al aire para que se oxigenaran por un espacio de 30 minutos, las mediciones se realizaron por triplicado y se obtuvieron los valores promedio de cada variable.

2.10 Determinación de fuerza de corte

La fuerza de corte de Warner-Bratzler de las muestras cocidas se determinó de acuerdo con el método descrito por la AMSA (2015). Inicialmente se descongelaron a 4° C durante 24 h, se les retiró la grasa y el tejido conectivo, y que a continuación fueron sometidas a un proceso de cocción en una parrilla eléctrica (Westinghouse, Pittsburgh,

PA, EEUU). La superficie de la parrilla se calentó a 200° C antes de la cocción. Las muestras se cocinaron hasta que alcanzaron una temperatura interna de 70° C verificando la temperatura en el centro geométrico de cada muestra utilizando un termopar tipo T de bayoneta (Testo, 0602 1081, Barcelona, Esp). Al término de la cocción, se colocaron individualmente en bolsas de plástico y se enfriaron a temperatura ambiente durante 30 minutos, para posteriormente realizar seis cortes cilíndricos en forma paralela a la orientación longitudinal de las fibras musculares con un dispositivo de extracción manual (sacabocado). A cada cilindro se le cortó con una cuchilla Warner-Bratzler del analizador de textura TA-XT plus (Stable Micro Systems, Godalming, LDN, UK) que operó a una velocidad de prueba de 2 mm/s. Los valores de la fuerza de corte se registraron como el esfuerzo máximo expresado en kg, el valor promedio de los cortes se utilizó para el análisis estadístico.

2.11 Extracción de ADN

El ADN genómico se extrajo de las muestras de carne empleando el protocolo propuesto por Sambrook. (2012), el cual se basa en la disgregación del tejido con 1250 µl de solución de lisis y 7 µl de proteinasa k (Bioline, Memphis, TE, EEUU), seguido de la extracción de proteínas y polisacáridos con 250 µl de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU) y finalmente la precipitación de ADN con 1000 µl de etanol frío (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.). La concentración y la calidad del ADN se determinaron utilizando el espectrofotómetro NanoDrop ND-100 UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE) tomando en cuenta la relación entre las lecturas a A260nm y A280nm. Las muestras de ADN obtenidas se diluyeron en agua libre de nucleasas para obtener concentraciones de 60 - 80ng/µL, posteriormente el ADN fue almacenado a -20°C hasta su posterior análisis.

2.12 Genotipificación molecular de las muestras para su clasificación

Las muestras fueron clasificadas de acuerdo a la subespecie empleando el marcador molecular SRY del gen determinante de sexo descrito por Sasazaki *et al.* (2007) el cual permite la identificación de las subespecies *Bos taurus* y *Bos indicus* a través del SNP TG localizado en la posición 1552 del gen determinante de sexo (No. Acceso: EU294189).

La genotipificación se llevó a cabo a través de la técnica de PCR-RFLP. La amplificación de los fragmentos de interés se realizó empelando los primers descritos por Sasazaki *et al.* (2007) (primer frontal: 5'-TTAGAACGCTTACACCGCATATTACT-3', primer reverso: 5'-TGTAGTAAAATTGAGATAAAGAGCGCCT-3'), el fragmento obtenido fue de 803pb. La mezcla de reacción para la PCR se preparó bajo las siguientes condiciones en un volumen total de 25 µL: 0.5 µL de cada primer, 10 µL de agua libre de nucleasas, 60 ng de ADN y 12.5 µL de la mezcla Master mix (Promega Corporation, Fitchburg, WI), la cual contiene 50 unidades/mL de Taq ADN polimerasa, 400 µM de cada dNTP y 3 mM de MgCl₂. Las condiciones de amplificación para este marcador fueron: desnaturalización inicial a 98°C, 5 min, desnaturalización a 98°C, 0.05 min, hibridación a 55°C, 0.40 min, elongación a 72°C, 0.20 min, elongación final a 72°C, 1min. Los fragmentos obtenidos de PCR fueron digeridos por la enzima Mse I a una temperatura de 37° por un tiempo de 90 minutos, en un volumen de reacción total de 10 µL, la cual contenía 5 µL del producto de PCR, 3.6 µL de agua libre de nucleasas, 1 µL de solución tampón y 0.4 µL de enzima. Los patrones de corte obtenidos se visualizaron en geles de acrilamida:bis (29:1, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) al 12% teñidos con bromuro de etidio (10 mg/mL, Gene Choice, Inc., Frederick, MD, EE.UU.). El patrón de corte correspondiente para *Bos taurus* fue: 37 pb, 222 pb y 544 pb y para *Bos indicus*, 37 pb, 98 pb, 124 pb y 544 pb.

2.13 Identificación de SNPs

La identificación de los SNPs, se llevó a cabo mediante primers específicos diseñados usando las secuencias reportadas en GenBank de acuerdo con los siguientes números de acceso: calpaína AF248054, calpastatina AH014526.1 y miopaladina NC_007329. En el caso del gen PPARG1A se utilizaron los primers reportados por Soria *et al.* (2009) (Tabla 2). La mezcla de reacción para la PCR se preparó bajo las siguientes condiciones en un volumen total de 25 µL: 0.5 µL de cada primer, 10 µL de agua libre de nucleasas, 60 ng de ADN y 12.5 µL de la mezcla Master mix (Promega Corporation, Fitchburg, WI), la cual contiene 50 unidades/mL de Taq ADN polimerasa, 400 µM de cada dNTP y 3 mM de MgCl₂. Las condiciones de amplificación de cada gen fueron calculadas de acuerdo a las recomendaciones del kit de Promega, considerando la temperatura de hibridación de

cada pareja de primers. Los productos amplificados se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% con 0.4 µg de bromuro de etidio y visualizados en un transiluminador de luz ultravioleta (Bio – Imaging Systems, Dún Laoghaire, Dublin)

Tabla 2: Primers empleados en la identificación de los SNPs.

GEN	SNP	Secuencia	Tm (°C)	Amplificado (pb)
Calpaína	A > G	F: 5'-TCTGCAGAGAGCTGGATGAC-3' R: 5'-TGCTGGGCTAGAGACCAAGAC-3'	56	119
Calpastatina	G > C	F: 5'-GCTAGCCAAGGCTACATCTCC-3' R: 5'-AAGCATGCGAACTGAAACGC-3'	59	101
Miopaladina	A > G	F: 5'-TCTGTACTTTGGTCATTGCTGAG-3' R: 5'-CCCTGGTCTAGACGGTTATGG-3'	55	150
PPARGC1A*	A > G	F: 5'-TCAGCAAGACCTCTGTGCTCAGCA-3' R: 5'-TGCTCACCTCCGCGGTCTCT-3'	62	255

*Secuencias reportadas por Soria *et al.*, (2009).

2.14 Genotipificación de SNPs

La genotipificación de cada SNPs se realizó mediante RFLP (polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción), digiriendo los productos de PCR con enzimas de restricción específicas. Las enzimas empleadas fueron: Ava II (G530A), Hae III (G1795A), Taq I (C357G) y Bst I (G1181A). Las digestiones se realizaron en reacciones de 10 µL compuestas por 5 µL del producto de PCR, 3.6 µL de agua libre de nucleasas, 1 µL de solución tampón y 0.4 µL de enzima, las condiciones de digestión para cada enzima se muestran en la tabla 3, las cuales corresponden a las recomendadas por el fabricante (New England Biolabs, Ipswich, MA). Los patrones de digestión obtenidos (tabla 3) se visualizaron en geles de acrilamida:bis (29:1, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) al 12% teñidos con bromuro de etidio (10 mg/mL, Gene Choice, Inc., Frederick, MD, EE.UU.).

Tabla 3: Enzimas y condiciones para llevar a cabo la digestión de los fragmentos de PCR.

SNP	Enzima	Temperatura / tiempo de digestión	Patrones de corte obtenidos
G530A	Ava II	37°C / 1h	AA: 83 pb, 36 pb GG: 60 pb, 36 pb, 23pb AG: 83pb, 60pb, 36pb, 23pb
G1181A	Bst I	37°C/ 1.5 h	AA: 255 pb GG: 226 pb, 29 pb AG: 255 pb, 226 pb, 29 pb
G1795A	Taq I	37°C / 1h	AA: 150 pb GG: 84 pb, 66 pb AG: 150 pb, 84 pb, 66 pb
C357G	Hae III	35°C / 1 h	GG: 55 pb, 46 pb CC: 46 pb, 32 pb, 23 pb AG: 55 pb, 46 pb, 32 pb, 23 pb

2.15 Diseño experimental

Para la determinación de pH, color y fuerza de corte el diseño planteado se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Diseño experimenta para la evaluación de pH, color y fuerza de corte.

Unidad experimental	Cortes de 5 cm de espesor del músculo <i>longissimus dorsi</i> (entre la 12va y 13va vértebra lumbar)		
Niveles de variación	Grupos genéticos (<i>Bos taurus</i> , <i>Bos indicus</i> , <i>Bos taurus x Bos indicus</i>)		
Técnica Experimental	Determinación de pH	Parámetros de perfil de color	Determinación de fuerza de corte
V. independiente	Grupo genético		
V. Dependiente	pH	L*, a*, b*	Fuerza de corte
Repeticiones	3	3	5
Replicas	90		

El análisis estadístico aplicado para evaluar los resultados de pH y color fue un ANDEVA de multifactor para determinar si existía diferencia significativa de los valores de estos entre los diferentes grupos genéticos y los días de evaluación.

La evaluación de los diferentes SNPs se llevó a cabo a través de técnicas de biología molecular, el diseño que se planteo fue el siguiente:

Tabla 5. Diseño experimenta para la evaluación de los SNPs.

Unidad experimental	ADN extraído de los cortes de 5 cm de espesor del músculo <i>longissimus dorsi</i> (entre la 12va y 13va vértebra lumbar)	
Niveles de variación	Grupos genéticos (<i>Bos taurus</i> , <i>Bos indicus</i> , <i>Bos taurus x Bos indicus</i>)	
Técnica Experimental	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)
V. independiente	Grupo genético	
V. Dependiente	Amplificado específico (pb) de los genes	Genotipos de los diferentes SNPs
Repeticiones	2	2
Replicas	90	

Para el análisis de cada SNP se realizó la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW), la cual determinó cuales frecuencias deben observarse en la población para cada genotipo en función de las frecuencias de los alelos (Iniesta *et al.*, 2005).

Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron calculadas de acuerdo a Iniesta *et al.* (2005) contabilizando la ocurrencia de los alelos, los genotipos en la población total y en los diferentes grupos genéticos de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

- Frecuencias genotípicas

$$Frecuencias\ genotípicas\ relativas = \frac{\# Genotipos}{N}$$

$$Frecuencias\ genotípicas = Frecuencias\ relativas \times 100$$

Donde:

N es el número de muestras

Para cada SNP se obtuvieron las frecuencias genotípicas correspondientes a los individuos homocigotos para el genotipo ancestral, homocigotos para la variante genética y genotipo para individuos heterocigotos.

- Frecuencias alélicas

$$p = \frac{\text{No.de individuos homocigotos para el alelo dominante} + (0.5 * \text{No de individuos heterocigotos})}{\text{Total de la muestra}}$$

$$q = \frac{\text{No.de individuos homocigotos para el alelo recesivo} + (0.5 * \text{No de individuos heterocigotos})}{\text{Total de la muestra}}$$

Donde:

p = alelo dominante

q = alelo recesivo

El equilibrio HW se determinó mediante la prueba de χ^2 (Ji cuadrada) usando el programa SPSS (26.0, 2019), empleando la siguiente ecuación:

$$p^2 + 2pq + q^2$$

Donde:

p^2 = alelo dominante en individuos homocigotos

$2pq$ = frecuencia predicha para heterocigotos

q^2 = alelo recesivo en individuos homocigotos

La prueba de asociación entre los genotipos y los rasgos de interés se llevó a cabo mediante el método de mínimos cuadrados y el procedimiento del modelo lineal generalizado (GLM) a través del programa SPSS (26.0, 2019) (Curi *et al.*, 2010; Chung y

Davis, 2012; Valencia y Zuluaga, 2013; Enríquez *et al.*, 2017). El modelo utilizado para ajustar las variables cuantitativas de interés incluyó el efecto fijo del genotipo de cada SNP y el efecto fijo del grupo genético y fue el siguiente:

$$Y_{ijklm} = \mu + G1_i + G2_j + G3_k + G4_l + GG_m + \varepsilon_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijklm} = Variable dependiente (WBSF)

μ =media global

$G1_i$ = efecto fijo del i-ésimo genotipo de G530A

$G2_j$ = efecto fijo del j-ésimo genotipo de C357G

$G3_k$ = efecto fijo del k-ésimo genotipo de G1795A

$G4_l$ = efecto fijo del l-ésimo genotipo de G1181A

GG_m = efecto fijo del m-ésimo grupo genético

ε_{ijklm} = error aleatorio.

Los efectos fijos que fueron significativos se analizaron mediante una prueba de comparación de medias de Tukey a través del programa SPSS (26.0, 2019) para determinar las diferencias entre los niveles de cada uno de los efectos.

El efecto de los alelos de cada SNP sobre la terneza se determinó mediante un análisis de sustitución alélica, para lo cual se transformó la información de la genotipificación en información cuantitativa asignándole valores de 0 al genotipo ancestral, 1 al genotipo heterocigoto y 2 al genotipo de la variante genética para cada SNP. Este análisis se realizó a través de una regresión lineal simple en el programa SPSS (26.0, 2019) (Valencia y Zuluaga, 2013; Arango *et al.*, 2014) aplicando el siguiente modelo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_i$$

Donde:

Y: Variable dependiente (WBSF)

β_0 : Intercepto.

β_1 : Coeficiente de regresión estimado para la sustitución alélica de cada SNP (G530A, C357G, G1795A y G1181A)

X_i : Número de alelos de la variante genética (0, 1 o 2)

CAPITULO 3: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 pH

La velocidad del descenso del pH después de la muerte del animal constituye uno de los factores cruciales de la transformación del músculo en carne, así como en la definición de la calidad futura de los productos preparados a partir de ella (Pardi *et al.*, 1993). El valor de pH del músculo a las 24 horas post- matanza es otro factor que influye sobre aspectos de la calidad de la carne, como las propiedades organolépticas de aroma, sabor, terneza y color (Devine *et al.*, 1983), así como la inhibición del crecimiento microbiano. Se ha demostrado que valores de pH por encima de 6.0 a las 24 h post- matanza denotan una carne OFS (oscura, firme y exudativa) la cual se caracteriza por una elevada retención de agua y una coloración oscura (Apple *et al.*, 1995; Tarrant y Sherinton, 1980), lo cual repercute de manera negativa sobre la terneza.

Los valores promedio de pH mostrados en la tabla 6, evaluados a las 24 hr post- matanza y 1 día post- descongelación oscilaron entre 5.52 y 5.64 que se encuentran dentro del intervalo de 5.4 y 5.8 considerado normal para bovinos (Panea *et al.*, 2010), por lo que la presencia de carne OFS se descarta en este estudio.

Tabla 6. Efecto del grupo genético sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne.

pH	<i>Bos taurus</i>	<i>Bos indicus</i>	<i>Bos taurus x Bos indicus</i>
	(n= 31) Media ± ESM	(n =29) Media ± ESM	(n =30) Media ± ESM
24 h post- matanza	5.525 ± 0.0087 ^a	5.543 ± 0.0109 ^a	5.534 ± 0.0105 ^a
1 día post- descongelación	5.435 ± 0.0208 ^b	5.424 ± 0.0198 ^b	5.443 ± 0.0187 ^b

Literales iguales en filas no hay diferencias significativas ($p > 0,05$), literales diferentes en columnas hay diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los resultados de pH obtenidos no mostraron diferencias significativas ($p = 0.875 > 0.05$) entre los diferentes grupos genéticos, esto concuerda con lo reportado por Webby *et al.* 1999 y Monson *et al.* 2004, quienes analizaron el pH en diferentes grupos raciales concluyendo que el pH no es un factor que se vea afectado por el grupo genético. Por

otro lado, en este estudio se encontraron diferencias significativas ($p = 0.0001 < 0.05$) entre los tiempos y condiciones de evaluación de pH (24h post- matanza y 1 día post-descongelación), la variación de pH se atribuye al proceso de congelación – descongelación, esto debido a la desnaturalización parcial de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas por efectos de la concentración de solutos y la formación no controlada de cristales intra y extracelulares. Todos los valores de la determinación de pH se muestran en el anexo A.

3.2 Perfil de Color

La mioglobina es la principal proteína responsable del color en la carne; pertenece al grupo de proteínas sarcoplasmáticas, que son solubles en agua. El color de la carne está influenciado principalmente por el contenido de pigmento, y por la forma química y la estructura de la mioglobina. Uno de los factores que determinan el color de la carne son el estado de oxidación del hierro y los compuestos (oxígeno, agua u óxido nítrico) unidos a la molécula (Mancini y Hunt, 2005). Por otro lado, la variación en la calidad de la carne es atribuida a varios factores tanto intrínsecos como extrínsecos, los cuales interactúan entre sí y determinan los procesos metabólicos en los periodos ante-mortem, el proceso de matanza y las etapas subsecuentes, afectando el color, por la influencia de la velocidad del pH y disminución de la temperatura (Tapp *et al.*, 2011).

La percepción del color es exclusiva para cada individuo, lo cual hace de esta característica una medición subjetiva; sin embargo, actualmente el color se puede medir de forma precisa a través de instrumentos que le atribuyen valores numéricos al color, los cuales hacen objetiva esta propiedad. El sistema CIELAB, es uno de los sistemas mayoritariamente empelados para la determinación del color en carne, este sistema maneja coordenadas tricromaticas: L*, indica la luminosidad o claridad (va del negro a blanco); a* indica el valor rojo/verde y b* indica el valor amarillo/azul (Hernández y Rios, 2009)

El color de la carne puede variar con la raza y con la aptitud productiva del animal (Boccard y Bordes, 1986). Fiems *et al.* (1995) mencionan diferencias de color entre razas, indicando que la carne de razas lecheras, que presentan elevado metabolismo y planos

musculares grueso, es más oscura que la de las razas especializadas en producción de carne. Por otro lado, Hoving *et al.* (1999) estudiaron el efecto de la raza sobre las coordenadas tricromaticas en ganado bovino concluyendo que no había efecto de las razas sobre el color, a esta misma conclusión llegaron Monson *et al.* (2004) al trabajar con diferentes razas españolas, en este trabajo se concluye también que los diferentes grupos genéticos no influyen sobre los valores de las coordenadas L, a* y b*, ya que los valores de P obtenidos para las comparaciones entre grupos genéticos fueron mayores a 0.05 (L*: p =0.1113, a*: p = 0.8986, b*: p =0.9029) (tabla 7).

Tabla 7. Efecto del grupo genético sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne.

Perfil de color	<i>Bos taurus</i> (n= 31) Media ± ESM	<i>Bos indicus</i> (n =29) Media ± ESM	<i>Bos taurus x</i> <i>Bos indicus</i> (n =30) Media ± ESM
L* (Luminosidad)			
24 h post- matanza	40.333 ± 0.445 ^a	40.734 ± 0.490 ^a	39.687 ± 0.614 ^a
1 día post- descongelación	40.409 ± 0.445 ^a	40.826 ± 0.507 ^a	39.690 ± 0.597 ^a
a* (Tonalidad rojo/verde)			
24 h post- matanza	19.039 ± 0.346 ^a	19.060 ± 0.332 ^a	19.072 ± 0.342 ^a
1 día post- descongelación	16.935 ± 0.368 ^b	16.611 ± 0.326 ^b	16.844 ± 0.354 ^b
b* (Tonalidad amarillo/azul)			
24 h post- matanza	15.627 ± 0.316 ^a	15.862 ± 0.309 ^a	15.742 ± 0.295 ^a
1 día post- descongelación	14.604 ± 0.323 ^b	14.645 ± 0.306 ^b	14.589 ± 0.296 ^b

L = Indica luminosidad, del 0 al 100, donde 0 es negro y 100 es blanco 3, a* = Intensidad del rojo, donde el rojo es expresado como + a y el verde como - a, b* = amarillo a azul, donde el amarillo es expresado como + b y el azul como - b.

Literales iguales en filas no hay diferencias significativas (p > 0.05), literales diferentes en columnas hay diferencias significativas (p < 0.05).

El color es un indicador que permite predecir la incidencia de carne OFS y S la incidencia, se ha sugerido que el valor de L* es uno de los parámetros que mejor predice la presencia de carne OFS, indicando que carnes con valores de claridad por encima de 33 son consideradas como normales (Mullen *et al.*, 2000), como se puede observar en la tabla anterior los resultados de la luminosidad (L*) se encuentran por encima del valor de

33 por lo tanto esto confirma que la carne evaluada en este estudio no presentó este problema.

Los resultados obtenidos mostraron una diferencia significativa en los valores de a^* y b^* ($p = 0.00017 < 0.05$, $p = 0.000012 < 0.05$) con respecto al día de evaluación, esto se atribuye a que la congelación y la velocidad de esta son determinantes para la formación de cristales, lo cual muchas veces puede causar daños a las fibras de la carne o desarrollar reacciones bioquímicas importantes como la proteólisis y la oxidación de los lípidos. Esto último puede afectar irreversiblemente las propiedades fisicoquímicas y funcionales de ciertas proteínas como la mioglobina (AMSA, 2012; Meléndez *et al.*, 2011). En el presente trabajo el valor promedio de a^* , fue ligeramente mayor para la carne evaluada 1 día post- descongelación, esto se atribuye al hecho de que la mioglobina de la superficie sufrió modificaciones por efecto de las reacciones de óxido – reducción que tuvieron lugar durante los procesos de congelación y descongelación. Este mismo fenómeno se observó en la coordenada b^* .

En cuanto al valor L^* no se observó diferencia significativa entre los días de evaluación, se sabe que la luminosidad depende de la cantidad absorbida y reflejada por la superficie de la carne (Karamucki *et al.*, 2013), por lo que el proceso de congelación y descongelación llegan a afectar este parámetro, ya que al someterse a congelación se forma escarcha superficial lo cual afecta la reflectancia, lo mismo ocurre cuando se realiza la descongelación por la presencia de agua superficial; sin embargo, la carne de este estudio fue congelada y descongelada a vacío, lo cual disminuyó su efecto sobre la luminosidad por los fenómenos descritos.

3.3 Fuerza de corte

La fuerza de corte presentó una media global de 6.40 kg (los valores de fuerza de corte determinados para todas las muestras se encuentran en el anexo C), el análisis estadístico mostró que el grupo genético es un factor que influye significativamente sobre este rasgo de calidad, los resultados obtenidos demuestran diferencia significativa de ternura ($p < 0.05$) entre los grupos genéticos *Bos taurus* y *Bos indicus*, colocando a la carne de *Bos taurus* como más tierna (6.083 ± 0.124 kg) en comparación con la de *Bos*

indicus (6.861 ± 0.097 kg), mientras que la carne de la cruce no mostró diferencias significativas con respecto a la de los otros dos grupos genéticos en estudio (Tabla 8). Estos resultados concuerdan con lo reportado por diferentes autores (Shackelford *et al.*, 1995; Pringle *et al.*, 1997) quienes han demostrado que la carne de *Bos indicus* es menos tierna que la de *Bos taurus*, lo cual de acuerdo a Brewer, (2014) tiene que ver con el proceso enzimático de proteólisis del músculo, en el cual enzimas como la calpaína y la catepsina tiene acción proteolítica sobre proteínas estructurales de la fibra muscular. Así, la extensión de la proteólisis inducida por las calpaínas en bovinos *Bos indicus* y el vacuno europeo (*Bos taurus*) se correlacionan con la textura, siendo mayor la proteólisis en *Bos taurus*, cuya carne es, por lo general, más tierna; por su parte, los músculos de *Bos indicus* presentan actividades más altas del inhibidor calpastatina (Vásquez *et al.*, 2007).

Tabla 8. Efecto del grupo genético sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne.

Grupo genético	N	WBSF (kg) Media \pm ESM
<i>Bos taurus</i>	31	6.083 ± 0.124^b
<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i>	30	6.405 ± 0.093^{ab}
<i>Bos indicus</i>	29	6.861 ± 0.097^a

Literales diferentes indican diferencias significativas. ($p = 0.001 < 0.05$).

La grasa intramuscular es otro factor que puede afectar la ternura de la carne; sin embargo, de acuerdo a González, *et al.* (2016), los depósitos de grasa intramuscular son mínimos en bovinos llevados a matanza a un peso promedio alrededor de 450 kg, esto debido a que estos animales a este peso aún no han desarrollado suficiente tejido graso, incluso de cobertura de la canal, mucho menos intramuscular, que generalmente se observa al final de procesos más largos de finalización con raciones de alta concentración energética.

Los resultados obtenidos fueron comparados frente a los dos sistemas siguientes de clasificación, mismos que fueron empelados y descritos por Vásquez *et al.*, 2007.

Clasificación según la fuerza de corte (resistencia al corte) que oponen las fibras musculares por medio de la cuchilla de Warner Bratzler (FCWB):

- Ligeramente tierna si la FCWB es menor de 6 kgf.
- Terneza intermedia si la FCWB está entre 6 y 9 kgf.
- Por encima de 9 kgf la carne debe ser declarada dura

Otros autores (Tatum *et al.*, 1996; Huertas, L y Rodas, G. 1998) han indicado que el umbral de 6 kgf no coincide con valores más exigentes, como 4.6 kgf ó 3.8 kgf, y han propuesto la siguiente clasificación:

- Carne tierna si la FCWB es menor de 2.27 kgf.
- Carne medianamente tierna si la FCWB es mayor de 2.27 y menor de 3.63 kgf.
- Carne dura si la FCWB es mayor de 3.63 y menor de 5.44 kgf.
- Carne extremadamente dura si la FCWB es mayor de 5.44 kgf.

Los cortes de carne *longissimus dorsi* estudiados se clasifican en carne con terneza intermedia (según FCWB) y carne extremadamente dura de acuerdo con los dos criterios referenciados (según Tatum *et al.*, 1996; Huertas, L y Rodas, G. 1998). Es importante tomar en consideración que los valores de terneza están influidos por factores tales como la alimentación, la edad y el manejo del animal, factores que también dependerán de las condiciones propias de la región y unidad productora de donde provenga la carne, sin embargo, estos factores pueden ser optimizados para la obtención de una mejora en la calidad sensorial, reflejada en este caso en la disminución de la resistencia al corte.

3.4 Genotipificación del marcador SRY para clasificación de muestras por grupo genético

En el sector cárnico, resulta de gran utilidad el poder identificar de manera correcta la raza de los animales, esto con la finalidad de buscar garantizar la calidad de la carne, ya que es sabido que esta depende en parte de la raza de la cual proviene la carne obtenida y comercializada. El uso de marcadores genéticos proporciona evidencia para identificar de manera certera la raza (Sasazaki *et al.*, 2007).

El presente estudio empleó el marcador SRY determinante descrito por Sasazaki *et al.*, (2007), para corroborar de manera molecular la clasificación visual realizada de las muestras de carne, en el estudio este marcador demostró ser certero en la identificación de los grupos genéticos *Bos taurus* y *Bos indicus* al demostrar una alta probabilidad de correcta identificación de 0.151 y una probabilidad de error por juicio de 0.000, comparada con 5 marcadores más analizados en una población de toros, por lo que resulta ser una herramienta molecular adecuada para la clasificación de los dos principales grupos genéticos. Este marcador solo permite la identificación de los grupos genéticos *Bos taurus* identificado con el genotipo GG y *Bos indicus* identificado con el genotipo TT, por lo que en las muestras clasificadas como cruce de *Bos taurus* x *Bos indicus* no fue empleado el marcador SRY.

Las figuras 1 y 2 muestran los patrones obtenidos tras la digestión de los productos de PCR. Como se pueden observar los patrones de corte son definidos y permitieron la clara identificación de los genotipos correspondientes para *Bos taurus* (544 pb, 222 pb y 37 pb) y *Bos indicus* (544 pb, 124 pb, 98 pb y 37 pb).

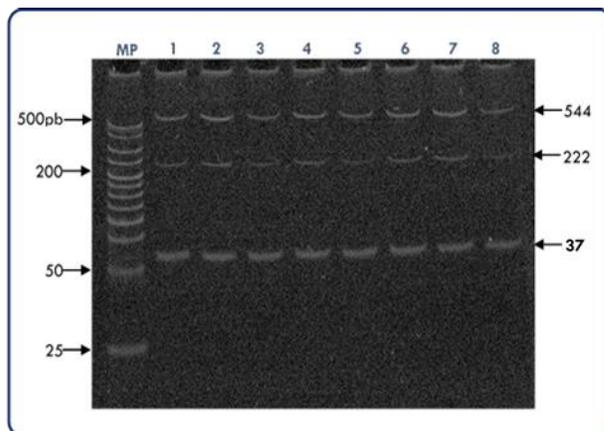


Figura 1: Gel de poliacrilamida al 12% para la genotipificación de muestras de *Bos taurus*. MP) Marcador de peso, carriles 1-8) Muestras de *Bos taurus*.

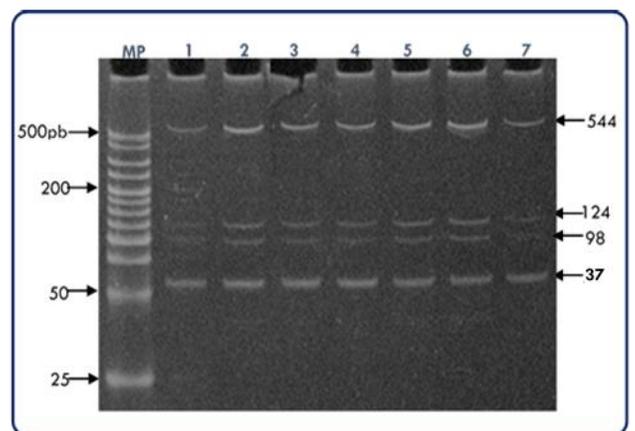


Figura 2: Gel de poliacrilamida al 12% para la genotipificación de muestras de *Bos indicus*. MP) Marcador de peso, carriles 1-8) Muestras de *Bos indicus*.

Después de la genotipificación total de las muestras de *Bos taurus* y *Bos indicus* se contabilizaron los genotipos identificados, de acuerdo a esto se obtuvo que para el caso de las muestras clasificadas como *Bos taurus* 4 correspondían al genotipo TT, característico de *Bos indicus*, mientras que en las muestras clasificadas como *Bos indicus* en 5 de ellas se identificó el genotipo correspondiente para *Bos taurus* (GG) (tabla 9).

Tabla 9. Genotipificación con el marcador SRY de las muestras clasificadas como *Bos taurus* y *Bos indicus*.

<i>Bos taurus</i>		<i>Bos indicus</i>	
(n = 30)		(n = 30)	
GG	TT	GG	TT
26	4	5	25

Los resultados obtenidos demostraron que la clasificación visual realizada puede considerarse certera debido a que para ambos grupos genéticos la mayoría de las muestras coincidió con la clasificación por genotipificación molecular, en el caso de las muestras no coincidentes esto puede deberse a errores en la identificación plena de las características fenotípicas, en donde esta clasificación debió llevarse a cabo de manera ágil y rápida durante el embarque de los animales procurando no perturbar al animal durante el proceso por lo que esto pudo limitar la correcta clasificación en algunos casos. Por otro lado, de la misma forma que es señalada por Sasazaki *et al.*, (2007) las muestras no coincidentes poseen mayor contribución genética aportada por uno de los progenitores con genotipo correspondiente a uno de los dos grupos genéticos.

Con la obtención de los resultados antes mencionados se retomó la clasificación quedando conformados los grupos genéticos con 31 individuos identificados como *Bos taurus*, 29 como *Bos indicus* y 30 como *Bos taurus* x *Bos indicus*.

3.5 Identificación de SNPs

El ADN obtenido se cuantificó a través de espectrofotometría, esta técnica se basa en la capacidad que tiene el ADN de absorber luz ultravioleta (UV). La absorción máxima es de 260nm, lo cual permite calcular la concentración de los ácidos nucleicos en la muestra. Las proteínas absorben luz UV a 280 nm, por lo que la relación entre la absorbancia A260/A280 se utiliza como indicador de calidad del material genético extraído, de esta forma se considera que valores de 1.8 a 2.0 de relación A260/A280 indican ADN con pureza óptima, mientras que valores por encima de 2.0 serán indicativo de contaminación con ARN y valores inferiores a 1.6 indican contaminación por compuestos aromáticos (Sambrook 2012). Los resultados de la extracción de ADN se encontraron dentro del rango de pureza óptima (anexo D), la cantidad de ADN obtenida fue superior a 500ng, esta cantidad se ajustó a una concentración aproximada de 60 ng – 80 ng para realizar la PCR de las muestras que se evaluaron.

Los primers diseñados fueron específicos para la identificación de los SNPs, con estos se llevó a cabo la amplificación de los fragmentos específicos para la identificación de cada SNP (figuras 3 a 6).

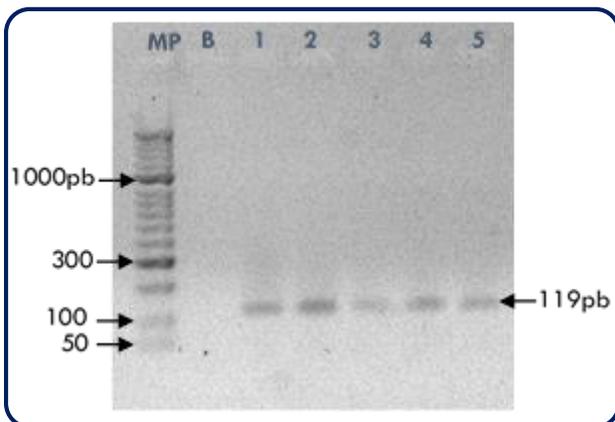


Figura 3: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP G530A para *Bos taurus*, MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.

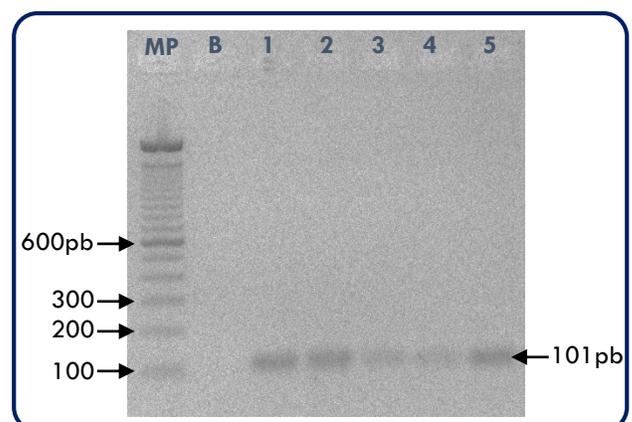


Figura 4: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP C357G para *Bos taurus*, MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.

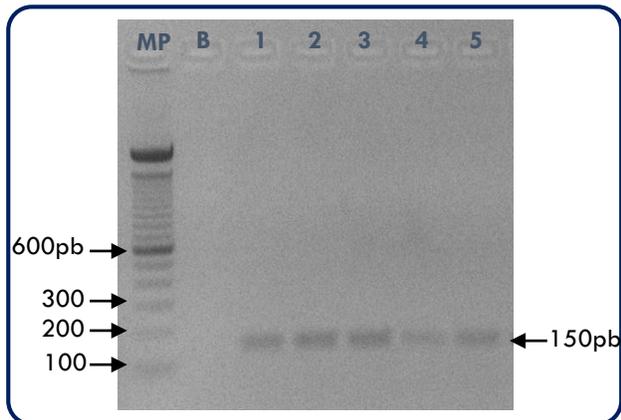


Figura 5: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP G1795A para *Bos taurus*, MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.

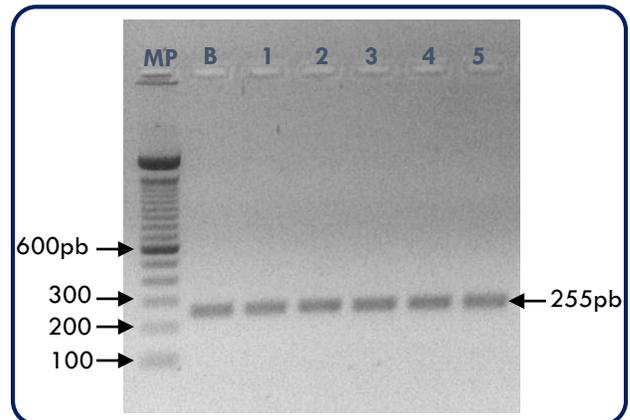


Figura 6: Gel de agarosa al 1.5% para la amplificación del SNP G1181A para *Bos taurus*, MP) marcador de peso, B) Blanco, 1 – 5) Muestras 1 a 5.

Las figuras anteriores muestran la obtención de amplificadores de cada SNP para el grupo genético *Bos taurus*, de igual manera para los grupos genéticos *Bos indicus* y *Bos taurus* \times *Bos indicus* se obtuvieron amplificadores definidos, la definición de los amplificadores indico que la concentración de ADN obtenida era adecuada, esta concentración fue corroborada a través de nano espectrofotometría con el equipo NanoDrop ND-100 UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE) obtenido concentraciones por arriba de 1000 ng, esto confirmó que el ADN fue suficiente para llevar a cabo posteriormente la digestión enzimática que permitió la genotipificación de los SNPs en estudio.

3.6 Genotipificación de SNPs

SNP G530A (*calpaína*)

Para el caso SNP G530A del gen de calpaína el análisis de genotipificación evidencio la presencia del genotipo AA, el cual ha sido asociado a la terneza de la carne, en una sola muestra perteneciente al grupo genético *Bos taurus* (figura 7).

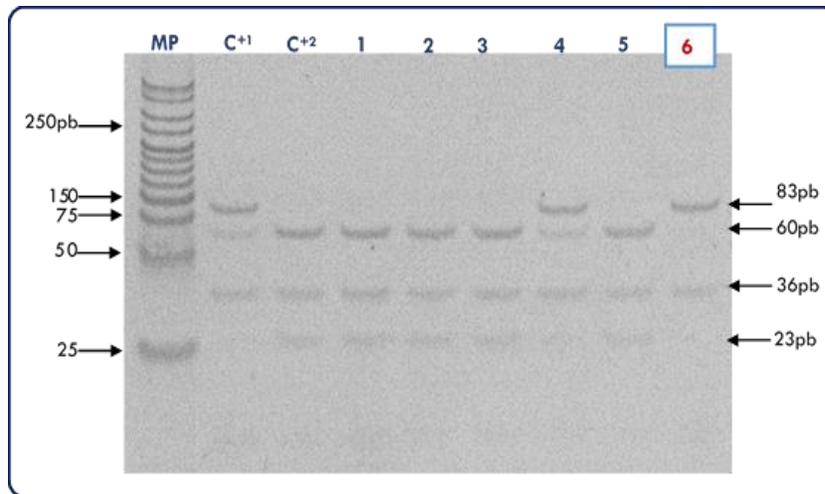


Figura 7: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación del RFLP para SNP G530A en el grupo genético *Bos taurus*, MP) marcador de peso, C⁺¹) control positivo para genotipo GA (heterocigoto), C⁺²) Control positivo para genotipo GG (Ancestral) 1) Muestra 13, 2) Muestra 14, 3) Muestra 15, 4) Muestra 16, 5) Muestra 17, 6) Muestra 18.

En la figura 7 se puede observar que en la muestra 18 (carril 6) tras la digestión enzimática se obtuvo el patrón de corte que corresponde al genotipo AA (83pb, 36pb, y 23pb). Después de analizar todas las muestras por RFLP se contabilizaron los genotipos obtenidos por grupo genético y se calcularon las frecuencias genotípicas y alélicas de acuerdo a Iniesta *et al.* (2005).

Los resultados obtenidos (Tabla 10) mostraron que el genotipo AA se presentó con muy baja frecuencia (3.2%), autores como Casas *et al.* (2006), Van Eenennaam *et al.* (2007), Allais *et al.* (2011) y Li *et al.* (2010) han reportado asociación del el genotipo AA con mayor ternera, en este estudio este genotipo solo fue detectado en una muestra correspondiente al grupo genético *Bos taurus*, mientras que el genotipo GG fue detectado en todos los grupos genéticos, y presentó mayor frecuencia en el grupo genético *Bos indicus* (89.7%). Por otro lado, el genotipo heterocigoto (AG), también fue detectado en los tres grupos genéticos, mostrando mayor frecuencia en el grupo *Bos taurus x Bos indicus* (36.7%). Con respecto las frecuencias alélicas, el alelo A tuvo menor frecuencia debido a que no se identificó en dos de los tres grupos genéticos, lo cual limita su asociación a la característica de ternera, por lo anterior esté genotipo fue descartado para el posterior análisis de asociación con la ternera.

Tabla 10. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP G530A.

Grupo Genético	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	GG	AG	A	G
<i>Bos taurus</i> (31)	0.032	0.774	0.194	0.13	0.87
<i>Bos indicus</i> (29)	--	0.897	0.103	0.05	0.95
<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> (30)	--	0.633	0.367	0.18	0.82

Entre paréntesis se muestran el número de individuos de cada grupo genético

En todos los SNPs se realizó una prueba de dependencia entre los grupos genéticos y las frecuencias de los genotipos mediante una prueba Chi – cuadrada, para el caso del SNP G530A se obtuvo un valor de $p = 0.053$, lo que sugiere que no existe una relación de la frecuencia de los genotipos con el grupo genético, demostrando que este marcador en la población estudiada no resulto característico de ningún grupo genético.

SNP C357G (*calpastatina*)

Para el SNP C357G el genotipo GG fue detectado en todos los grupos genéticos, la figura 8 muestra la detección de este genotipo en dos muestras del grupo genético *Bos indicus*.

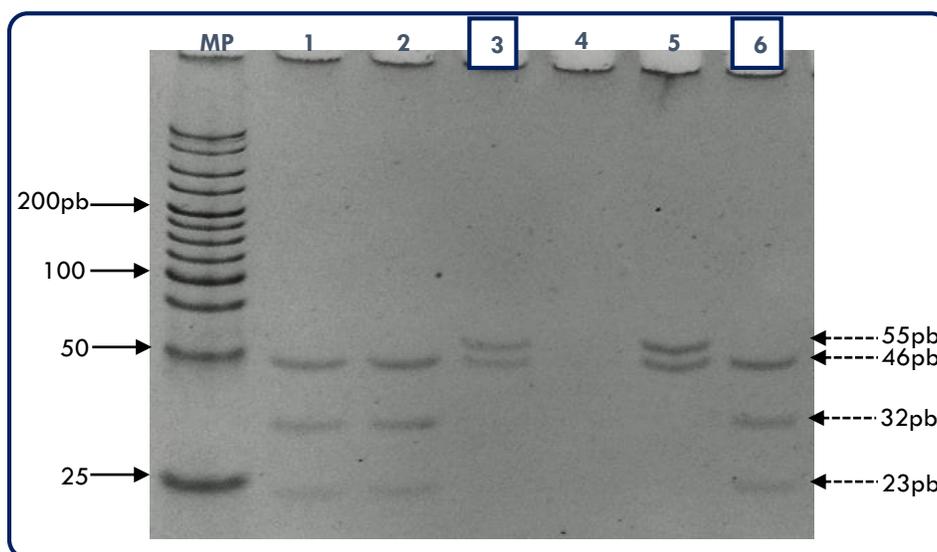


Figura 8: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación de RFLP para el SNP C357G para el grupo genético *Bos indicus*, MP) marcador de peso, 1) control positivo para genotipo CC, 2) Muestra 8, 3) Muestra 9, 4) Muestra 10, 5) Muestra 11, 6) Muestra 12.

En la figura 8 se observó que las muestras de los carriles 3 y 6 son las que presentaron el patrón de corte característico del genotipo GG (55 pb y 46 pb), el resto de las muestras en el gel presentaron el patrón de corte correspondientes al genotipo ancestral CC (46 pb, 32 pb y 23pb). Además de estas dos muestras con genotipo GG en dos muestras más (19 y 22) se detectó este genotipo en el grupo genético *Bos indicus*.

Tabla 11. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP C357G.

Grupo Genético	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	GG	CC	GC	G	C
<i>Bos taurus</i> (31)	0.065	0.548	0.387	0.26	0.74
<i>Bos indicus</i> (29)	0.138	0.759	0.103	0.19	0.81
<i>Bos taurus x Bos indicus</i> (30)	0.033	0.833	0.133	0.10	0.90

Entre paréntesis se muestran el número de individuos de cada grupo genético

En cuanto a las frecuencias genotípicas y alélicas (tabla 11), los resultados mostraron que la mayor frecuencia para el genotipo GG corresponde al grupo genético *Bos indicus* (13.8%), seguido del grupo genético *Bos taurus* donde se tuvo 6.5% de este genotipo, el grupo genético *Bos taurus x Bos indicus* fue donde la frecuencia del genotipo GG fue menor (3.3%). Por otro lado, las frecuencias alélicas señalan la predominancia del alelo C, siendo el grupo genético *Bos taurus* donde se presentó la mayor frecuencia de este (0.26). Sin embargo, cuando los resultados se analizaron por medio de una prueba de Chi – cuadrada, esta frecuencia no resultó significativa con relación a los otros grupos genéticos ($p = 0.067 > 0.05$), por lo que este SNP no puede ser asociado a un grupo genético en particular.

SNP G1795A (miopaladina)

El análisis de genotipificación para el SNP G1795A permitió la identificación de los tres genotipos en los todos los grupos genéticos estudiados, el genotipo correspondiente a la variante genética (AA) fue identificado en menor proporción, la figura 9 muestra los resultados, de acuerdo al patrón de corte correspondiente, para la detección de este genotipo, en el grupo genético *Bos indicus*.

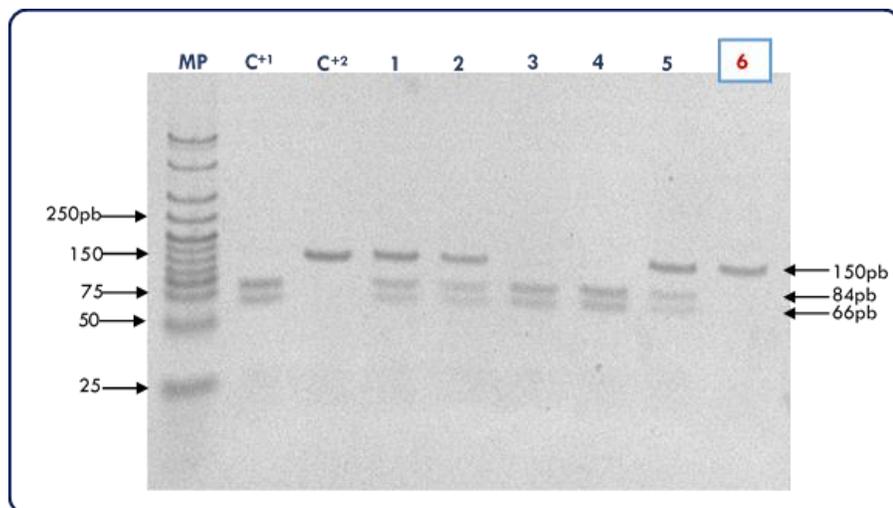


Figura 9: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación de RFLP para el SNP G1795A en el grupo genético *Bos indicus*, MP) marcador de peso, C⁺¹) control positivo para genotipo GG, C⁺²) Control positivo para genotipo AA, 1) Muestra 16, 2) Muestra 17, 3) Muestra 18, 4) Muestra 19, 5) Muestra 20, 6) Muestra 21.

El genotipo AA fue el que presentó mayor frecuencia en el grupo genético *Bos indicus*, además de la muestra 21 (figura 9) este genotipo fue detectado en 7 muestras más (muestras 1, 6, 10, 11, 27, 29 y 30)

Las muestras obtenidas de cada genotipo se contabilizaron por grupo genético para realizar el cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas para realizar el análisis correspondiente (tabla 12).

Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP G1795A.

Grupo Genético	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	GG	AG	A	G
<i>Bos taurus</i> (31)	0.226	0.258	0.516	0.48	0.52
<i>Bos indicus</i> (29)	0.310	0.138	0.552	0.59	0.41
<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> (30)	0.167	0.200	0.633	0.48	0.52

Entre paréntesis se muestran el número de individuos de cada grupo genético

El genotipo AA fue el que presento una menor frecuencia para los tres grupos genéticos, de igual forma la frecuencia del alelo A asociado a la terneza fue menor

comparada con la del alelo G, la frecuencia del alelo A detectada va de 48% a 59%, mientras que la del alelo G fue de 41% a 52%. Un estudio previo realizado por Jiao *et al.* (2010), en ganado europeo reporto frecuencias alélicas para el alelo A que van de 39.77% hasta el 73.58%, mientras que las frecuencias alélicas G fueron de 26.42% a 60.2%, estos resultados establecían que la baja frecuencia alélica de G pareciera estar relacionada con las características fenotípicas manifiestas y con la calidad de la carne en ganado, así como también lo ha sido en cerdos. Sin embargo, en este estudio la mayor frecuencia del genotipo AA se detectó en el grupo genético *Bos indicus* (31.1%), de acuerdo a la prueba de Chi – cuadrada la frecuencia de los genotipos de este SNP no tiene relación con el grupo genético ($p = 0.5946 > 0.05$), lo cual demuestra que el marcador no es característico en la población estudiada del grupo genético *Bos taurus*, contrario a lo sugerido por Jiao *et al.* (2010). Esta diferencia de resultados puede atribuirse a factores como la variabilidad propia que se experimenta dentro de una población bajo condiciones específicas lo cual puede repercutir en la segregación del SNP.

SNP G1181A (PPARGC1A)

En la genotipificación del SNP G1181A se detectó solo en tres muestras el genotipo AA, las cuales correspondieron a individuos del grupo genético *Bos indicus*, la figura 10 muestra la identificación de este genotipo a través del patrón de corte correspondiente (255 pb) para una de las tres muestras detectadas (muestra 7).

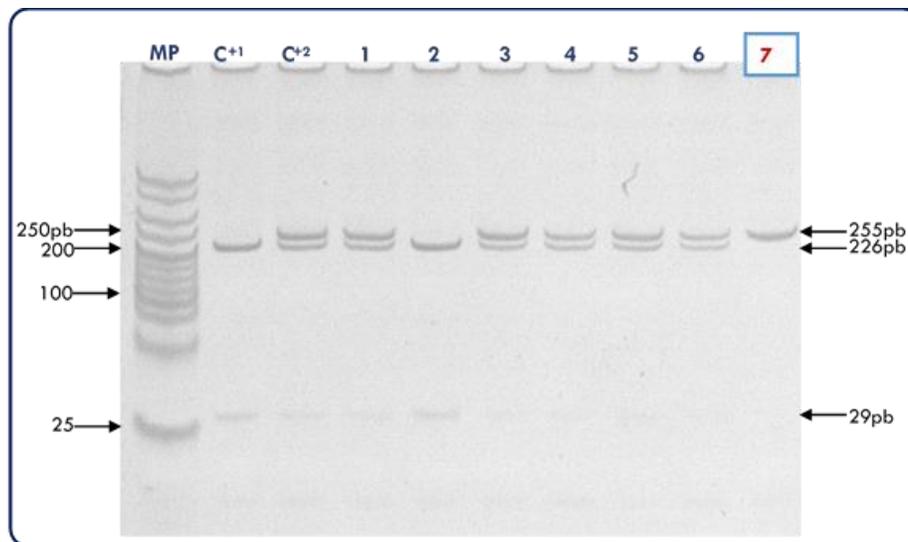


Figura 10: Gel de acrilamida:bis al 12% para la evaluación de RFLP para el SNP G1181A en el grupo genético *Bos indicus*, MP) marcador de peso, C⁺¹) control positivo para genotipo GG, C⁺²) Control positivo para genotipo GA, 1) Muestra 1, 2) Muestra 2, 3) Muestra 3, 4) Muestra 4, 5) Muestra 5, 6) Muestra 6, 7) Muestra 7.

Las muestras obtenidas de cada genotipo se contabilizaron para realizar el cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas para su posterior análisis, las frecuencias alélicas obtenidas se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 13. Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para el SNP G1181A.

Grupo Genético	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	GG	AG	A	G
<i>Bos taurus</i> (31)	--	0.516	0.484	0.24	0.76
<i>Bos indicus</i> (29)	0.103	0.414	0.483	0.34	0.66
<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> (30)	--	0.633	0.367	0.18	0.82

Entre paréntesis se muestran el número de individuos de cada grupo genético

Los resultados obtenidos mostraron que la frecuencia más baja correspondió al genotipo AA (10.3%), mientras que el genotipo predominante fue el GG, la superioridad de la presencia del alelo G fue notable obteniendo frecuencias de 82% a 66%, comparado con el alelo A (34% a 18%), es importante mencionar que el genotipo AA sólo fue

identificado en el grupo genético *Bos indicus*, registrándose también una mayor frecuencia del alelo A en este grupo genético (34%), esto es consistente con los resultados obtenidos por Soria *et al.* (2009), quienes determinaron que el genotipo AA podría considerarse exclusivo para las razas *Bos indicus*, ya que en su estudio este genotipo no fue detectado en ganado *Bos taurus* (*Angus*), de igual manera reportaron predominancia del alelo G sobre el alelo A, ellos detectaron este alelo en ganado *Bos indicus*, reportando frecuencias desde 40% a 15.9% para toros Brahman, Nelore y Brangus. La presunta exclusividad de este SNP podría justificar las diferencias en la composición corporal y los rasgos de calidad de la carne entre las razas *Bos taurus* y *Bos indicus*, sin embargo, de acuerdo al análisis por Chi – cuadrada que se realizó en este estudio, se obtuvo que la frecuencia de los genotipos de este SNP no está relacionada con el grupo genético ($p = 0.0816 > 0.05$), es decir que la aparición de los genotipos no depende del grupo genético.

3.7 Análisis del efecto de los SNPs sobre la terneza

Para el análisis de asociación de los SNPs con la terneza se calcularon las frecuencias genotípicas y alélicas en la población total estudiada, además se realizó la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW), la cual determina qué frecuencias deben observarse en la población para cada genotipo en función de las frecuencias de los alelos (Iniesta *et al.*, 2005), estos resultados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Frecuencias genotípicas y alélicas para los SNPs.

SNP	Genotipo	N	Frecuencia genotípica	Alelo	Frecuencia Alélica	Equilibrio HW
G530A <i>calpaína</i>	AA	1	0.011	A	0.122	**
	GG	69	0.767			
	AG	20	0.222	G	0.878	
C357G <i>calpastatina</i>	GG	7	0.078	G	0.183	NE
	CC	64	0.711			
	GC	19	0.211	C	0.817	
G1795A <i>miopaladina</i>	AA	21	0.233	A	0.517	**
	GG	18	0.200			
	AG	51	0.567	G	0.483	
G1181A <i>PPARGC1a</i>	AA	3	0.033	A	0.256	**
	GG	47	0.522			
	AG	40	0.444	G	0.744	

** $p > 0.05$ están en equilibrio de HW, NE (no equilibrio de HW).

En la tabla 14, se observó que el equilibrio de Hardy-Weinberg no se cumplió solo para el SNP de calpastatina (C357G), esto podría deberse a la presencia de diferentes causas que están modificando el equilibrio génico, las frecuencias genotípicas para un gen se pueden ver afectadas por diferentes fuerzas evolutivas como; mutación, deriva genética, selección natural, selección dirigida de rasgos fenotípicos de producción, migración, las cuales pueden aumentar la diferenciación genética de las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 2013).

Los resultados de la aplicación del modelo propuesto, en donde se analizó el efecto sobre la terneza de los genotipos de cada SNP se muestran a continuación (los resultados de la genotipificación completa de cada SNP se localizan en el anexo E).

Efecto del SNP G530A (*calpaína*)

El polimorfismo CAPN530 en el gen CAPN1 provoca un cambio de adenosina por guanina en el codón 530 (GTC/ATC) del dominio III de la enzima μ -calpaína, dando como consecuencia el cambio de un aminoácido, valina por isoleucina, esta alteración es relativamente conservada, aunque puede cambiar la estabilidad de la proteína y su ensamblaje, lo que podría afectar su actividad proteolítica, por lo anterior el SNP G530A se le ha asociado fuertemente con la terneza (Page *et al.*, 2002; Curi *et al.*, 2009).

En este trabajo el análisis del efecto del genotipo del SNP G530A sobre la terneza demostró que no existe asociación del genotipo con este rasgo ($p > 0.05$) (tabla 15).

Tabla 15. Efecto del SNP G530A sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.

Genotipo	N	WBSF (kg) Media \pm ESM
AA	-	-
GG	69	6.4633 \pm 0.072 ^a
AG	20	6.2780 \pm 0.163 ^a

Literales iguales indican que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Los autores Casas *et al.*, (2006), Van Eenennaam *et al.* (2007), Allais *et al.* (2011) y Li *et al.*, (2010), reportaron que el SNP G530A, en los individuos con genotipo AA presentaron carne más blanda al compararlos con animales con genotipos AG y GG. En el presente trabajo el genotipo AA manifestó una muy baja frecuencia ya que sólo se identificó en un animal del grupo genético *Bos taurus*, mientras que el genotipo GG fue el predominante para todos los grupos genéticos, estos resultados son consistentes con los observados por Casas *et al.* (2005), quienes reportaron la ausencia del alelo A en animales *Bos indicus*. Por otro lado, Curi *et al.* (2009), mencionaron que no existía una asociación del SNP G530A con la terneza en diferentes grupos genéticos al encontrar una muy baja frecuencia del genotipo AA y la predominancia del genotipo GG, de la misma forma nosotros no encontramos una asociación significativa de este SNP ($p =$

0.537 > 0.05) con la terneza debido a que los valores de terneza obtenidos para los genotipos GG y AG fueron similares (6.4633 kg y 6.2780 kg).

Efecto del SNP C357G (*calpastatina*)

En la actualidad, se han reportado 933 SNPs en calpastatina para bovinos (Lenis *et al.*, 2018), algunos de los cuales se han asociado significativamente con la variabilidad en la terneza de la carne bovina (Motter *et al.*, 2009; Chung y Davis, 2012). Sin embargo, existen pocos estudios sobre las variaciones de secuencias o cambios en las regiones reguladoras potenciales que pudieran explicar las diferencias fenotípicas en la calidad de la carne (Juszczuk *et al.*, 2009), por lo que en este estudio se analizó el SNP C57G, localizado en el exón 1u, asociado al promotor III.

De acuerdo a los resultados obtenidos mostrados en la tabla 16, el efecto del SNP C357G sobre la terneza resulto no ser significativo ($p > 0.05$).

Tabla 16. Efecto del SNP C357G sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.

Genotipo	N	WBSF (kg) Media \pm ESM
GG	7	6.603 \pm 0.186 ^a
CC	64	6.441 \pm 0.075 ^a
GC	19	6.228 \pm 0.180 ^a

Literales iguales indican que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

El SNP C537G fue analizado por Juszczuk *et al.* (2009) junto con otros siete nuevos polimorfismos localizados en el exón 1u, estos polimorfismos fueron detectados como haplotipos en bovinos de seis grupos genéticos europeos (*Bos taurus*), presentando frecuencias de 0.55 a 0.39, estos resultados sugirieron que estos polimorfismos podrían ser asociados de manera individual con rasgos de interés económico de la carne como la terneza, en este trabajo se analizó la presencia del SNP C537G no solo en ganado *Bos taurus*, sino también en ganado *Bos indicus* y la cruce de estos, sin embargo, para el caso de la población analizada el efecto de este SNP sobre la terneza no fue

significativo ($p = 0.989 > 0.05$), estos resultados sugieren de manera preliminar que aun cuando este SNP se localiza en una región importante asociada con la regulación de expresión genética la sustitución que se da no afecta de forma determinante a la expresión de la calpastatina para poder repercutir directamente sobre el fenotipo de la ternera.

Efecto del SNP G1795A (*miopaladina*)

La interacción demostrada del gen de miopaladina con la proteína cardíaca de repetidos de anquirina (CARP), desarrolla un importante papel en cuanto a la irrupción de los componentes sarcoméricos, debido a una sobre expresión de la región de unión CARP con miopaladina (Knöll *et al.*, 2002), la afectación de la conformación sarcomérica repercute sobre rasgos de calidad de importancia, es por esto que el SNP G1795A se le ha asociado significativamente con el área del ojo del lomo y la capacidad de retención de agua y la ternera.

En este estudio se evaluó el efecto de los genotipos del SNP G1795A sobre la ternera (tabla 17), de acuerdo con el análisis realizado se demostró que este SNP no influye en la ternera ($p > 0.05$).

Tabla 17. Efecto del SNP G1795A sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.

Genotipo	N	WBSF (kg) Media \pm ESM
AA	21	6.371 \pm 0.135 ^a
GG	18	6.540 \pm 0.149 ^a
AG	51	6.378 \pm 0.092 ^a

Literales iguales indican que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Los resultados de Jiao *et al.* (2010), en donde analizaron este SNP en 7 grupos raciales de ganado *Bos taurus*, sugieren que el genotipo AA podría considerarse determinante en las características de calidad de interés en particular en el área del ojo y la retención de agua, además de estar relacionado con el grupo genético *Bos taurus* ya que las frecuencia de este genotipo fue la más alta en la población estudiada, con relación

a la terneza se obtuvieron resultados poco concluyentes, debido a que el valor de la terneza para el genotipo GG fue ligeramente menor (1.67kg) comparado con el valor del genotipo AA (1.84kg), estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de la evaluación de este SNP en diferentes poblaciones.

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron mayor frecuencia del genotipo heterocigoto AG (0.567), seguido del genotipo AA (0.233), es importante señalar que el genotipo AA tuvo mayor frecuencia en el grupo genético *Bos indicus*, por lo que en la población estudiada se descarta que este genotipo pueda considerarse como característico del ganado *Bos taurus*. De acuerdo con la evaluación del efecto del SNP sobre la terneza el análisis estadístico demostró que no existe asociación con este SNP ($p = 0.395$), debido a que los valores medios de la terneza obtenidos para cada genotipo fueron muy similares (AA =6.371kg, GG =6.540 kg AG = 6.378 kg).

Efecto del SNP G1181A (PPARGC1A)

Las diferentes funciones del gen PPARGC1A, como la regulación del metabolismo de la energía oxidativa en el músculo esquelético, sugieren una influencia potencial sobre la terneza ya que el SNP G1181A, provoca la sustitución del aminoácido serina por asparagina, lo cual interrumpe un sitio de fosforilación de la caseína kinasa II.

De acuerdo a lo resultados obtenidos de la evaluación del efecto fijo de los genotipos del SNP G1181A (tabla 18), se estableció que este SNP no repercute sobre la terneza ($p > 0.05$).

Tabla 18. Efecto del SNP G1181A sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler (WBSF) en carne bovina.

Genotipo	N	WBSF (kg) Media \pm ESM
AA	3	6.890 \pm 0.040 ^a
GG	47	6.401 \pm 0.110 ^a
AG	40	6.384 \pm 0.088 ^a

Literales iguales indican que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Los resultados obtenidos mostraron que el genotipo AA fue el que menor presencia tuvo en la población estudiada representando solo el 3.3%, el cual solo fue identificado en el grupo genético *Bos indicus*, lo que concide con el reporte de Soria *et al.* (2009), el valor de la terneza promedio (6.890 kg) determinado para este genotipo fue mayor alrededor de 500gr comprado con los valores determinados para los genotipos GG (6.401 kg) y AG (6.384 kg), sin embargo, de acuerdo al análisis estadístico esta diferencia de la terneza no es estadísticamente significativa ($p = 0.803 > 0.05$), por lo que a pesar de la sugerencia de Soria *et al.* (2009), este SNP no puede considerarse en el caso de la población estudiada como un marcador candidato para su inclusión en un panel de predictores de la terneza, esta no asociación se puede atribuir en parte a que la región donde se sitúa este polimorfismo es una región no conservada entre grupos.

3.8 Efecto de la sustitución alélica de los SNPs G530A (calpaína), C357G (calpastatina), G1795A (miopaldina) y G1181A (PPARGC1A) sobre la terneza

Los resultados del análisis de regresión lineal entre los alelos de cada SNP y las variaciones de la terneza se muestran en la tabla 19. De acuerdo con el valor de β_1 , la terneza se incrementa 0.261 kg con la presencia del alelo A para el SNP G530A, de igual forma para el SNP G1181A la presencia del alelo A incrementa la terneza 0.091kg. Mientras que para los SNPs C357G y G1795A los alelos de la variante genética repercutieron en una disminución de la terneza de 0.021kg y 0.081k, respectivamente. El análisis estadístico mostró que para todos los SNPs el efecto de la sustitución alélica no fue significativo ($p > 0.05$), estos resultados sugieren que la presencia del alelo de la variante genética no tiene un efecto sobre la terneza de la carne de la población analizada.

Tabla 19. Efecto de la sustitución alélica de cada SNP sobre la fuerza de corte Warner-Bratzler; I (intercepto), β_1 (coeficiente de regresión entre los genotipos de los diferentes SNPs y la fuerza de corte).

SNP	I	β_1	p
G530A <i>(calpaina)</i>	6.473	0.261	0.079
C357G <i>(calpastatina)</i>	6.417	-0.021	0.847
G1795A <i>(miopaladina)</i>	6.493	-0.081	0.432
G1181A <i>(PPARGC1a)</i>	6.363	0.091	0.452

CONCLUSIONES

Los SNPs que fueron analizados en el presente trabajo no confirman la asociación descrita previamente con el rasgo de la terneza, la divergencia de los resultados obtenidos podría tener relación con los efectos ambientales y genéticos diferenciales, entre otros, lo cual puede repercutir incluso con marcadores directos dentro de una raza. Este desacuerdo también podría deberse a diferencias en la fase de enlace entre los marcadores y el locus de rasgos cuantitativos (QTL), en interacciones epistáticas que afectan el gen candidato y en la magnitud del efecto del gen candidato sobre el fenotipo.

Los resultados obtenidos en esta investigación refuerzan la necesidad de la validación de SNPs propuestos para la selección asistida por marcadores sobre rasgos de calidad en el ganado bovino, es importante señalar que la eficiencia de estos SNPs se ve afectada posiblemente por la gran variación entre razas existentes en las diferentes poblaciones, ya que en cada región existe una mezcla distinta de razas en los animales, aunado al nulo o deficiente registro de parámetros tanto productivos como reproductivos, lo cual dificulta tener una visión clara de lo que ocurre en las explotaciones ganaderas, lo que indica la necesidad de llevar a cabo un análisis de validación de los SNPs de interés en cada unidad productiva, la información genómica y el uso de algunas de sus herramientas como la PCR y las enzimas de restricción para la genotipificación, se pueden usar como un complemento con la información genealógica e información fenotípica de los animales, con el objetivo de poder introducir de manera favorable estos polimorfismos mediante programas de manejo asistido por marcadores que acompañen a los métodos tradicionales de selección y cruzamiento y así mejorar así las características de importancia económica como la terneza, con lo cual se busca el beneficio a los productores de ganado y el incremento de la calidad de sus productos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allais, S., Journaux, L., Levéziel, H., Payet-Duprat, N., Raynaud, P., Hocquette, J. F., ... Renand, G. (2011). Effects of polymorphisms in the calpastatin and μ -calpain genes on meat tenderness in 3 French beef breeds. *Journal of Animal Science*, 89(1), 1–11.
2. Allan, M.F., y Smith, T.P.L. (2008). Present and future applications of DNA technologies to improve beef production. *Meat Science*, 80 (1), 79-85.
3. American Meat Science Association (AMSA). 2012. Meat color measurement guidelines. Illinois, USA.
4. American Meat Science Association (AMSA). 2015. Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation and Instrumental Tenderness Measurements of Meat. 2da. Ed. AMSA & National Livestock and Meat Board, Chicago
5. Apple, J. K., Dikeman, M. E., Minton, J. E., McMurphy, R. M., Fedde, M. R., Leith, D. E., y Unruh, J. A. (1995). Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. *Journal of animal science*, 73(8), 2295–2307.
6. Arango, G. J., Echeverri, Z.J., López, H.A. (2014). Asociación del gen de la hormona de crecimiento bovino con parámetros reproductivos en ganado Holstein. *Revista MVZ Córdoba*. 19 (3): 4249-4258.
7. Bang, M.L., Mudry, R.E., McElhinny, A.S., Trombitás, K., Geach, A.J., Yamasaki, R., ... Labeit, S. (2001). Myopalladin, a novel 145-kilodalton sarcomeric protein with multiple roles in Z-disc and I-band protein assemblies. *Journal of Cell Biology*, 153(2), 413–427.
8. Belitz, H.W., y Grosch, W. (1985). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
9. Blanco, M.R. (2004). Valoración de la ternera de la carne bovina: influencia del colágeno de tipo I y III. *Cuadernos del CEAgró*, 6, 127-132.

10. Boccard, R. y Bordes, P. (1986). Caracteristiques qualitatives et technologiques des viandes bovines: influence des facteurs de production. En: D. Micol (Eds), *Production de viande bovine* (pp. 61-84). INRA, Paris, Francia.
11. Bosselmann, A., Möller, C., Steinhart, H., Kirchgessner, M., y Schwarz, F.J. (1995). Pyridinoline cross-links in bovine muscle collagen. *Journal of Food Science*, 60(5), 953-958.
12. Brandt, P., y Aaslyng, M. D. (2015). Welfare measurements of finishing pigs on the day of slaughter: a review. *Meat science*, 103, 13–23.
13. Brewer, M. (2014). Chemical and physical characteristics of meat | Water-Holding Capacity. En Dikeman, M., y Devine C. (Eds), *Encyclopedia of Meat Sciences*, Massachusetts, Estados Unidos: Academic Press.
14. Cabrera, M. C., Ramos, A., Saadoun, A., y Brito, G. (2010). Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 84(3), 518–528.
15. Carballo, B., y López de Torre, G. (1991). *Manual de bioquímica y tecnología de la carne*. En: Madrid Vicente, D.L (Eds). Madrid, España. ISBN: 84-87440-09-6
16. Casas, E. (2002). Identification of quantitative trait loci in beef cattle. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 10(1), 54-61.
17. Casas, E. (2006). Aplicación de la genómica para identificar genes que influyen sobre características económicamente importantes en animales. *Archivos latinoamericanos de producción animal*, 14(1), 23-31.
18. Casas, E., White, S. N., Riley, D. G., Smith, T. P. L., Brennemant, R. A., Olson, T. A., ... Chase, C. C. (2005). Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 83(1), 13–19
19. Chacón, A. (2004). La suavidad de la carne: implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*, 15(2), 225–243.
20. Chung, H., y Davis, M. (2012). Effects of genetic variants for the calpastatin gene on calpastatin activity and meat tenderness in Hanwoo (Korean cattle). *Meat Science*, 90(3), 711–714.

21. CIE. (2004) Technical report, colorimetry. Commission Internationale de L'Éclairage
22. Cong, M., Thompson, V. F., Goll, D. E., y Antin, P. B. (1998). The bovine calpastatin gene promoter and a new N-terminal region of the protein are targets for cAMP-dependent protein kinase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 273(1), 660–666.
23. Corva, P.M., Soria, L., Villarreal, E.L., Schor, A., Perez C.M., Motter, M., ... Grigera N.J. (2007). Association of polymorphisms on the CAPN1 and CAST genes with meat tenderness in beef cattle of Argentina. *Genetics and Molecular Biology*. 30(4), 1064-1069.
24. Cross, H.R., Schanbacher B.D., y Crouse, J.D. (1984). Sex, age and breed related changes in bovine testosterone and intramuscular collagen. *Meat science*, 10(3), 187-195.
25. Crouse, J.D., Cundiff, R.M., Koch, M., Koohmaraire, M., y Seideman, S.C. (1989). Comparison of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristic and meat palatability. *Journal of Animal Science*, 67(10), 2661-2668.
26. Curi, R. A., Chardulo, L. A., Giusti, J., Silveira, A. C., Martins, C. L., y de Oliveira, H. N. (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 science*, 86(4), 915–920
27. Curi, R. A., Chardulo, L. A., Mason, M. C., Arrigoni, M. D., Silveira, A. C., y de Oliveira, H. N. (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*. *Animal genetics*, 40(4), 456–462.
28. Dekkers, J.C.M. (2004). Commercial application of marker and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82(E-Suppl), E313-E328.
29. Dekkers, J.C.M., y Hospital, F. (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews of Genetics*, 3, 22–32.
30. Devine, C.E., Chrystall, B.B., Davey, C.L., y Kirton, A.H. (1983). Effects of nutrition in lambs and subsequent postmortem biochemical changes in muscle. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 26(1), 53–57.

31. Dufour, E., Dalgalarondo, M., Herve, G., Goutefongea, R., y Haertle, T. (1996). Proteolysis of type III collagen by collagenase and cathepsin B under high hydrostatic pressure. *Meat science*, 42(3), 261-269.
32. Eguiarte, L.E., Aguirre, J.A., Jardón, L., Aguirre, E., Souza, V. (2013). Genómica de Poblaciones: Nada en Evolución va a tener sentido si no es a la luz de la Genómica, y nada en Genómica tendrá sentido si no es a la luz de la Evolución. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(1), 42–56.
33. Emori, Y., Kawasaki, H., Imajoh, S., Minami, Y., y Suzuki, K. (1988). All four repeating domains of the endogenous inhibitor for calcium-dependent protease independently retain inhibitory activity. Expression of the cDNA fragments in *Escherichia coli*. *The Journal of biological chemistry*, 263(5), 2364–2370.
34. Enríquez, V.C. E., Pereira, G. L., Malheiros, J. M., de Vasconcelos Silva, J., Albuquerque, L. G., de Oliveira, H. N., Chardulo, L., y Curi, R. A. (2017). Effect of the g.98535683A>G SNP in the CAST gene on meat traits of Nellore beef cattle (*Bos indicus*) and their crosses with *Bos taurus*. *Meat science*, 123, 64–66.
35. Ferguson, D. M., y Warner, R. D. (2008). Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants?. *Meat science*, 80(1), 12–19.
36. Fideicomisos Instituidos en Relación con la agricultura (FIRA). (2017). Panorama agroalimentario, carne de bovino 2017. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200639/Panorama_Agroalimentario_Carne_de_bovino_2017_1.pdf.
37. Fiems, L.O., Van Hoof, J., Uytterhaegen, L., Boucqué, C.V., y Demeyer, D.I. (1995). Comparative quality of meat from muscle and normal beef cattle. En: A. Ouali, D.I. Demeyer y F.J.M. Smulders (Eds), Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality (pp. 381-3939). Eceeamst, Utrecht, Holanda.
38. Food and Agriculture Organization (FAO). (2019). Carne y Productos Cárnicos. Recuperado de: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>
39. Food and Agriculture Organization (FAO). (2019). Perspectivas alimentarias. Resúmenes de mercado. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/CA0910ES/ca0910es.pdf>

40. Food and Agriculture Organization (FAO). SAGARPA. (2012) Documento metodológico para el cálculo del subíndice de diversidad pecuaria. México, D. F. 92 p.
http://smye.info/rn/ind_fin/pecuario/informe%20de%20biodiversidad%20actualizado.pdf.
41. Frylinck, L., Van Wyk, G.L., Smith, T.P.L., Strydom, P.E., Van Marle-Köster, E., Webb, E.C., y Smith, M.F. (2009). Evaluation of biochemical parameters and genetic markers for association with meat tenderness in South African feedlot cattle. *Meat Science*, 83(4), 657–665.
42. Garrick, D.J., y Johnson, P.L. (2003). Examples of markerassisted selection in sheep and cattle improvement in New Zealand. In Proceedings: 8th Genetic Prediction Workshop “Molecular Approaches to Genetic Improvement”, Kansas City, Missouri, December 4-6. Pp. 16-34.
43. Garriz, C.A. (2001). Calidad organoléptica de la carne vacuna, influencia de factores biológicos y tecnológicos. En Jornada de Ganadería Vacuna, Facultad Agronomía y Veterinaria UNRC, Cordoba, Argentina.
44. Geesink, G.H., Van Laack, H.L.J.M., Barnier, V.M.H., y Smulders, F.J.M. (1994). Does Electrical Stimulation Affect the Speed of Ageing Response? *Sciences des Aliments*.14, 409-422.
45. Geesink, G.H., y Koohmaraie, M. (1999). Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by mu-calpain under postmortem conditions. *Animal Science*. 77(10), 2685-2692.
46. Gill, J.L., Bishop, S.C., McCorquodale, C., Williams, J.L., y Wiener, P. (2009). Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. *Genetics, selection, evolution: GSE*, 41(1), 36.
47. Gill, J.L., Bishop, S.C., McCorquodale, C., Williams, J.L., y Wiener, P. (2010). Associations between single nucleotide polymorphisms in multiple candidate genes and carcass and meat quality traits in a commercial Angus-cross population. *Meat science*, 86(4), 985–993.

48. Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W., y Cong, J. (2003). The calpain system. *Physiological Reviews. American Physiological Society*, 83, 731-80.
49. González, T.M. (2016). Efecto de la suplementación con minerales a partir de fuentes queladas o inorgánicas y vitamina E en la calidad y estabilidad oxidativa de la carne de bovinos (Tesis de maestría). UNAM, Estado de México, México.
50. Greer, G.G., y Jones, S.D. (1997). Quality and bacteriological consequences of beef carcass spray-chilling: Effects of spray duration and boxed beef storage temperature. *Meat science*, 45(1), 61–73.
51. Hertog, M.M.J., Smulders, F.J., Van Logtestijn, J.G., y Van Knapen, F. (1997). The Effect of Electrical Stimulation on The Water-Holding, Capacity and Protein Denaturation of Two Bovine Muscles. *Journal of Animal Science*, 75(1) 118-124.
52. Hocquette, J.F., Lehnert, S., Barendse, W., Cassar- Malek, I., Picard, B. (2007). Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 1(1), 159–173.
53. Hopkins, D.L., Hegarty, R.S., Walker, P.J., y Pethick, D.W. (2006). Relationship between animal age, intramuscular fat, cooking loss, pH, shear force and eating quality of aged meat from sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46, 878-884.
54. Hopkins, D.L., y Thompson, J.M. (2002). Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderization in beef and sheep meat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53, 149–166.
55. Houbak, M. B., Ertbjerg, P., y Therkildsen, M. (2008). In vitro study to evaluate the degradation of bovine muscle proteins post-mortem by proteasome and μ -calpain. *Meat science*, 79(1), 77–85.
56. Hoving-Bolink, A.H., Hanekamp, W.J.A., y Walstra, P. (1999). Effects of sire breed and husbandry system on carcass, meat and eating quality of Piemontese and Limousin crossbred bulls and heifers. *Livestock Production Science*, 57(3), 273-278.
57. Huerta, L.N. (2000). Parámetros de qualida de de carne para o inicio de milenio. En: Gestao Estrataegica na Pecuaria. Anais 4º. Congresso Brasileiro das racas Cebuínas, Uberaba, Brazil.

58. Huerta, L.N., Atencio, V.O., Rodas, G.A., Jerez, T.N., y Bracho, B. (1997) Características de reses de novillos y novillas acebuados producidos a pastoreo y su relación con atributos de la calidad comestible de la carne. *Archivos latinoamericanos de producción animal*, 5 (Supl. 11), 565-567.
59. Huerta, L.N., y Ríos, G. (1993). La castración a diferentes estadios de crecimiento II. Efectos sobre las características de la res. *Revista de la Facultad de Agronomía (Luz)*. 10,163.
60. Huertas L, N. y Rodas, G.A. (1998). El ganado de doble propósito. ¿Carne para consumidores exigentes?. En: C. Gonzáles *et al.* (Eds). Mejorada de la ganadería mestiza de doble propósito. Maracaibo, Venezuela: Astro Data S.A.
61. Illian, M.A., Morton, J.D., Bekhit, A.E., Roberts, N., Palmer, B., Sorimachi, H., y Bickerstaffe, R. (2001). Effect preslaughter feed withdrawal period on *Longissimus* tenderness and the expression of calpains in the ovine. *Agricultural food chemistry*, 49(4), 1990-1998.
62. Iniesta, R., Guinó, E., Moreno, V. (2005). Statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies. *Gaceta Sanitaria* ,19(4), 333–341.
63. Jacob, R.H., Walker, P.J., Skerritt, J.W., Davidson, R.H., Hopkins, D.L., Thompson, J.M., Pethick, D.W., y Walker, P.J. (2005). The effect of lairage time on consumer sensory scores of the M. longissimus thoracis et lumborum from lambs and lactating sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45(5), 535-542.
64. Jareño, N. (2018). Mercados mundiales de carne de vacuno y porcino. Interempresas net. Recuperado de: <http://www.interempresas.net/Industria-Carnica/Articulos/219274-Mercados-mundiales-de-carne-de-vacuno-y-porcino.htm>
65. Jiao, Y., Zan, L.S., Liu, Y.F., Wang, H.B., y Guo, B.L. (2010). A novel polymorphism of the MYPN gene and its association with meat quality traits in *Bos taurus*. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 9(3), 1751–1758.
66. Juszczuk-Kubiak E, Flisikowski K, Wicinska K, Poloszynowicz J, Rosochacki S (2009) Identification of the new polymorphisms in the promoter region of the CAST gene in cattle. *Meat Science*, 82(2), 278–283.

67. Juszcuk-Kubiak, E., Wyszynska-Koko, J., Wicinska, K., Rosochacki, S. (2008). A novel polymorphisms in intron 12 of the bovine calpastatin gene. *Molecular Biology Reports*, 35(1),29–35
68. Karamucki, T., Jakubowska, M., Rybarczyk, A., y Gardzielewska, J. (2013). The influence of myoglobin on the colour of minced pork loin. *Meat science*, 94(2), 234–238
69. Killefer, J., y Koohmaraie, M. (1994). Bovine skeletal muscle calpastatin: cloning, sequence analysis, and steady-state mRNA expression. *Journal of Animal Science*. 72(3), 606-614.
70. Knöll, R., Hoshijima, M., y Chien, K.R. (2002). Z-line proteins: Implications for additional functions. *European Heart Journal Supplement*, 4(1), 13-17.
71. Koch, R.M., Dikeman M.E., y Crouse, J.D. (1982). Characterizations of biological types of cattle (Clycle III) III Carcass composition, quality and palatability. *Journal of Animal Science*, 54(1), 35-45.
72. Koohmaraie, M. (1992) Role of the neutral proteinases in postmortem muscle protein degradation and tenderness. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*. 45, 63.
73. Koohmaraie, M. (1994). Muscle proteinases and meat ageing. *Meat Science*, 36(1-2), 93-104.
74. Koohmaraie, M., Whipple, G., Kretchmar, D.H., Crouse, J.D., y Mersmann, H.J. (1991). Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. *Journal of Animal Science*, 69(2), 617–624.
75. Krause, M., Soria, L.A., Corva, P.M. (2008). Caracterización de los promotores del gen CAST en razas índicas. XXXVII Congreso Argentino de Genética. *Basic and Applied Genetics*.19, 192.
76. Lenis, C., Ramos, L., Hernández, D., y Álvarez, L. (2018). Polimorfismos de los genes calpaína y calpastatina en el ganado criollo colombiano Hartón del Valle. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(3), 818.
77. Li, J., Zhang, L. P., Gan, Q. F., Li, J. Y., Gao, H. J., Yuan, Z. R., ... Xu, S. Z. (2010). Association of CAST gene polymorphisms with carcass and meat quality traits in chinese commercial cattle herds. Asian-Australasian. *Journal of Animal Sciences*, 23(11), 1405–1411.

78. Mancini, R.A., y Hunt, M.C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 100–121.
79. Marshall D. M. (1999). Genetics of meat quality. En: Fries RF, Ruvinsky A (Eds). *The genetics of cattle*. New Cork: CABI Publishing; 605–636. ISBN: 9781780642215
80. Martínez, E. (2012). Mejorando la terneza de la carne de bovino. *Revista Veterinaria*, 52(5), 90-100.
81. McElhinny, A.S., Kazmierski, S.T., Labeit, S., y Gregorio, C.C. (2003). Nebulin: the nebulous, multifunctional giant of striated muscle. *Trends in cardiovascular medicine*, 13(5), 195–201.
82. McNeill, S., y Van Elswyk, M. E. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat Science*, 92(3), 166-173.
83. Meléndez, P. R., Arjona, R.J.L., Velazquez, C.R.R., Mendez, A. A., y Vázquez. D.A. (2011). On the Thermal Properties of Frozen, Refrozen and Freeze Drying Porcine Longissimus dorsi. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(22), 2956-2960.
84. Mestroni, L. (2009). Phenotypic Heterogeneity of Sarcomeric Gene Mutations. A Matter of Gain and Loss?. *Journal of the American College of Cardiology*, 54 (4), 343–345.
85. Monsón, F., Sañudo, C., y Sierra, I. (2004). Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Science*, 68(4), 595–602.
86. Monteiro, R.M. y Peluff, F. M. (2001) *Revista de Plan Agropecuario*. 103.
87. Morgan, J.B., Savell, J.W., Hale, D.S., Miller, R.K., Griffin, D.B., Cross, H.R., y Shackelford, S.D. (1991). National Beef tenderness survey. *Journal of Animal Science*, 69(8), 3274-3280.
88. Motter, M.M., Corva, P., Krause, M., Perez C.M., y Soria, L. (2009). Rol de la calpastatina en la variabilidad de la terneza de la carne bovina. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 20(1), 15-24.
89. Mullen, A.M., Murray, B., y Troy, D. (2000). Predicting the eating quality of meat. The National Food Centre Research Report No. 28. ISBN 1841701572.
90. Nair, M.N., Summan, S.P., Li, S., Ramanathan, R., y Mancini, R. A. (2014). Temperature- and pH- dependent effect of lactate on in vitro redox stability of red meat myoglobins. *Meat Science*, 96(1), 408 -412.

91. NOM-033-SAG-ZOO-2014. Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres Diario Oficial de la Federación, Ciudad de México, México, 16 de agosto de 2015.
92. NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales. Diario Oficial de la Federación, Ciudad de México, México, 23 de marzo de 1996.
93. O'Brien, S.J., Menotti, R. M., Murphy, W.J., Nash, W.G., Wienberg, J., Stanyon, R.,...Marshall, G.J.A. (1999). The promise of comparative genomics in mammals. *Science*, 286(5439), 458-481.
94. Onega, P. M. E. (2003). Evaluación de la calidad de carnes frescas: aplicación de técnicas analíticas, instrumentales y sensoriales. Departamento de Nutrición y Bromatología III. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Pp: 31-36.
95. Ono, Y., Sorimachi, H., y Susuki, K. (1998). Structure and physiology of calpain, an enigmatic protease. *Biochemical and biophysical research communications*, 245(2), 289-294.
96. Page, B.T., Casas, E., Heaton, M.P., Cullen, N.G., Hyndman, D.L., Morris, C.A., Crawford, A.M., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Keele, J.W., y Smith, T.P. (2002). Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of animal science*, 80(12), 3077–3085.
97. Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J.L., y Sierra, I. (2010). Characterization of the carcass and the meat of minorcan cattle breed. *Archivos de Zootecnia*, 59(227), 467–470.
98. Pardi, M.C., Santos, I.F., Souza, E.R., y Pardi, H.S. (1993). *Ciência, higiene e tecnologia da carne: Tecnologia da sua obtenção e transformação*. Goiás, Brazil: Centro Editorial e Grafico da Universidade da Goiás.
99. Parra, B.G., Rincon, A., De la Rosa Reyna, X., y Vera, W. (2011). Advances and perspectives of genomics biotechnology applied to livestock production in Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(3), 1025 -1037.
100. Pearson, A. (1986). Physical and Biochemical Changes Occurring in Muscle during Storage and Preservation. In *Muscle As Food*. Bechtel, P.J (Eds). Nueva York, Estados Unidos.

101. Pearson, A.M. y T. R. Dutson. (1994). Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products, 1ra edición. Blackie Academic & Professional, NewYork.
102. Pfizer, J., Assfalg-Machleidt, I., Machleidt, W., y Schaschke, N. (2008). Inhibition of human mucalpain by conformationally constrained calpastatin peptides. *Biological Chemistry*, 389(1), 83-90.
103. Pringle, T.D., Williams, S.E., Lamb, B.S., Johnson, D.D y West, R.L. (1997). Carcass characteristics, the calpain proteinase system, and aged tenderness of Angus and Brahman crossbred steers. *Journal of Animal Science*, 75(11), 2955-2961.
104. Purchas, R.W., Yan, X., y Hartley, D.G. (1999). The influence of a period of ageing on the relationship between ultimate pH and shear values of beef M. longissimus thoracis. *Meat Science*, 51(2), 135 - 141.
105. Ramírez, V.R., Núñez, D.R., y Fabián, B.E. (2014). Caracterización de las publicaciones sobre mejoramiento genético animal en revistas científicas mexicanas. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(1), 59-72.
106. Ray, B., y Bhunia, A. (2010). *Fundamentos de Microbiología de los Alimentos*. Ciudad de México, México: Mc.Graw Hill. ISBN 13:978-0-8493-7529-3
107. Riley, R.R., Smith, G.C., Cross, H.R., Savell, J.W., Long, C.R., y Cartwright, T.C. (1986). Chronological age and breed type effects on carcass characteristics and palatability of bull beef. *Meat Science*, 17(3),187-198.
108. Sambrook, J., G. M. (2012). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press (Vol. 1).
109. Sasazaki, S., Mutoh, H., Tsurifune, K., y Mannen, H. (2007). Development of DNA markers for discrimination between domestic and imported beef. *Meat Science*, 77(2), 161–166.
110. Sensky, P., Parr, T., Bardsley, R., y Buttery, P. (2001). Meat tenderisation: the role of calpains. *Animal Science*. 2001, 239-242.
111. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Boletín mensual de producción Carne en canal de bovino. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/435396/Bolet_n_mensual_de_la_producci_n_carne_de_bovino_diciembre_2018.pdf

112. Shackelford, S. D., Wheeler, T.L., Meade, M.K., Reagan, J.O., Byrnes, B.L., y Koohmaraie, M. (2001). Consumer impressions of Tender Select beef. *Journal of Animal Science*, 79(10), 2605–2614.
113. Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., y Koohmaraie, M. (1995). Relationship between Shear Force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Animal Science*, 73(11), 3333-3340.
114. Sifuentes, R.A.M., y Parra, B.G.M. (2011). ¿Cuál es el valor de las Pruebas de ADN para la ganadería de carne en México?. *Simmental Simbrah: Las verdaderas razas de doble propósito*, 21, 16-18
115. Smith, T. P., Casas, E., Rexroad, C. E., 3rd, Kappes, S. M., y Keele, J. W. (2000). Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *Journal of Animal science*, 78(10), 2589-2594.
116. Soria, L. A., Corva, P. M., Branda Sica, A., Villarreal, E. L., Melucci, L. M., Mezzadra, C. A., Papaleo Mazzucco, J.,...Miquel, M. C. (2009). Association of a novel polymorphism in the bovine PPARGC1A gene with growth, slaughter and meat quality traits in Brangus steers. *Molecular and cellular probes*, 23(6), 304–308.
117. Soria, L.A., y Corva, P.M. (2004). Factores genéticos y ambientales que determinan la suavidad de la carne bovina. *Archivos latinoamericanos de producción animal*, 12 (2), 73-88.
118. Sorimachi, H., Ishiura, S., y Susuki, K. (1997). Structure and physiological function of calpains. *The Biochemical Journal*, 328, 721-732.
119. Suzuki, K., y Sorimachi, H. (1998). A novel aspect of calpain activation. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 433(1-2), 1-4.
120. Tapp, W. N., 3rd, Yancey, J. W., y Apple, J. K. (2011). How is the instrumental color of meat measured?. *Meat science*, 89(1), 1–5.
121. Tarrant, P.V. (1989). Animal behaviour and environment in the dark-cutting condition in beef e a review. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 13(1), 1-21.
122. Tarrant, P.V., y Sherington, J. (1980). An investigation of ultimate pH in the muscles of commercial beef carcasses. *Meat Science*, 4(4), 287–297.
123. Tatum, J.D., R.D. Green, S.F. O'Connors y G.C. Smith. (1996). Puntos críticos del control genético para mejorar la terneza en carnes de res de cruces de bovinos

- tolerantes al calor. En: N. Huerta-Leidenz, N. y K.E. Belk (Eds.). El ganado Brahman en el umbral del siglo XXI. Memorias del Congreso Mundial de la Raza Brahman (375-403). Maracaibo, Venezuela: Astro Data S.A.
124. Tiande, Z., Xiangbing, M., Bing, Y., Jun, H., Ping, Z., Jie, Y., y Daiwen, C. (2014). Effects of dietary energy density and apparent ileal digestible lysine: digestible energy ratio on growth performance, meat quality, and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) gene expression of muscle and adipose tissues in Landrace x Rong chang crossbred pigs. *Livestock Science*, 167, 219–226.
 125. Toohey, E.S., y Hopkins, D.L. (2006). Effects of lairage time and electrical stimulation on sheep meat quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(6), 863- 867.
 126. Tornberg, E. (1996). Biophysical Aspects of Meat Tenderness. *Meat Science*, 43(Supl 1), 175-191.
 127. Torres, R. (2011). Ganadería Nacional, potencial poco explotado. *Tierra Fértil: La revista del campo*, 34(Abril), 8-13.
 128. Totland, G. K., Kryvi, H., y Slinde, E. (1988). Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine M. semitendinosus and its relation to tenderness. *Meat Science*, 23(4), 303–315.
 129. Valencia, D.C.E., y Zuluaga, J.J.E. (2013). Efecto del polimorfismo del gen de la somatotropina (BGH) sobre características lineales en vacas Holstein. *Revista Lasallista de Investigación*, 9(1), 21–31.
 130. Van der Werf, J., y Kinghorn, B. (2000). Basic of marker assisted selection. En: Course notes: Identifying and Incorporating Genetic Marker and Major Genes. Animal Breeding Programs. Belo Horizonte, Brazil.
 131. Van Eenennaam, A. (2006). DNA-Based Biotechnologies, En: USA: Iowa State University (Eds), The National Beef Cattle Evaluation Consortium Beef Sire Selection Manual (pp.66 – 73). Iowa; Estados Unidos.
 132. Van Eenennaam, A. L., Li, J., Thallman, R. M., Quaas, R. L., Dikeman, M. E., Gill, C. A., ... Thomas, M. G. (2007). Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *Journal of Animal Science*, 85(4), 891–900.

133. Vásquez, R. E., Ballesteros, H.H., y Muñoz, C. A. (2007). Factores asociados con la calidad de la carne. I parte: la terneza de la carne bovina en 40 empresas ganaderas de la región Caribe y el Magdalena Medio. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 8(2), 60-65.
134. Vásquez, R.E., Díaz, T.E., y Pulido, J.I. (2002). Producción de carne de alta calidad en Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria -Corpoica-, Boletín técnico.
135. Vignal, A., Milan, D., San Cristobal, M., y Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics, Selection and Evolution*, 34(3), 275-305.
136. Vries, A. G. Sosnicki, A., Garnie, J. P., y Plastowh, G. S. (1998). The Role of Major Genes and DNA Technology in Selection for Meat Quality in Pigs. *Meat Science*, 49(Supl 1), 245-255.
137. Warriss, P.D.(1990). The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass and meat quality. *Applied Animal Behaviour Science*, 28(1-2), 171-186.
138. Watanabe, A., Daly, C.C., y Devine, C.E. (1996). The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. *Meat Science*, 42 (1), 67–78.
139. Webby, R.W., Fisher, A.D., Lambert, M.G., y Turner, P. (1999). The relationship between beef ultimate pH, breed of cattle, muscle glycogen and enzyme levels and animal behavior. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 59, 287 -290.
140. Weikard R., Kühn C., Goldammer T., Freyer G., y Schwerin, M. (2005). The bovine PPARGC1A gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. *Physiological genomics*, 21(1), 1–13.
141. Wheeler, T.L., Cundiff, L.V. y Koch, R.M. (1994) Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 72(12), 3145-3151.
142. White, S.N., Casas, E., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Riley, D.G.,... Smith, T.P.L. (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. *Journal of Animal Science*, 83 (9), 2001–2008.

143. Williamson, C. S., Foster, R. K., Stanner, S. A., y Buttriss, J. L. (2005). Red meat in the diet. *Nutrition Bulletin*, 30(4), 323-355.
144. Young, O.A., Hopkins, D.L., y Pethick, D.W. (2005). Critical control points for meat quality in the Australian sheep meat supply chain. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45(6), 593-601.
145. Zhou, H., y Hickford, J.G.H. (2008). Allelic variation of bovine calpastatin (CAST) gene. *Molecular and Cellular Probes*, 22(2), 129-130.

ANEXOS

Anexo A. pH

Tabla A1: Valores de pH determinados a las 24 horas *post-mortem*.

<i>Bos taurus</i>					<i>Bos indicus</i>					<i>Bos taurus x Bos indicus</i>				
ID Muestra	No. Canal	pH1	pH2	Media	ID Muestra	No. Canal	pH1	pH2	Media	ID Muestra	No. Canal	pH1	pH2	Media
1	241	5.43	5.44	5.44	2	247	5.53	5.6	5.565	1	244	5.62	5.61	5.62
2	242	5.50	5.53	5.52	3	259	5.58	5.56	5.57	2	256	5.58	5.56	5.57
3	243	5.57	5.6	5.59	4	264	5.54	5.54	5.54	3	257	5.55	5.56	5.56
4	246	5.46	5.47	5.47	6	266	5.45	5.46	5.455	4	262	5.57	5.56	5.57
5	250	5.50	5.5	5.50	7	270	5.52	5.54	5.53	5	265	5.55	5.53	5.54
6	252	5.45	5.48	5.47	9	275	5.56	5.6	5.58	6	273	5.42	5.44	5.43
7	260	5.57	5.52	5.55	10	276	5.57	5.58	5.575	7	278	5.56	5.58	5.57
8	263	5.54	5.6	5.57	11	280	5.43	5.44	5.435	8	283	5.54	5.56	5.55
9	268	5.46	5.49	5.48	12	51	5.5	5.48	5.49	9	258	5.50	5.50	5.50
10	269	5.54	5.54	5.54	13	52	5.56	5.5	5.53	10	255	5.64	5.63	5.64
11	271	5.50	5.56	5.53	14	56	5.57	5.56	5.565	11	254	5.46	5.45	5.46
12	272	5.56	5.6	5.58	16	63	5.53	5.55	5.54	12	253	5.58	5.57	5.57
13	277	5.55	5.53	5.54	17	70	5.59	5.58	5.585	13	251	5.42	5.44	5.43
14	279	5.60	5.6	5.60	18	76	5.47	5.48	5.475	14	248	5.51	5.49	5.50
15	281	5.54	5.56	5.55	19	77	5.53	5.52	5.525	15	261	5.56	5.57	5.57
16	282	5.57	5.55	5.56	21	80	5.5	5.52	5.51	16	54	5.42	5.43	5.43
17	249	5.56	5.56	5.56	22	83	5.6	5.62	5.61	17	59	5.54	5.56	5.55
18	49	5.48	5.48	5.48	23	85	5.49	5.5	5.495	18	60	5.56	5.53	5.55
19	53	5.56	5.55	5.56	24	87	5.67	5.68	5.675	19	61	5.51	5.5	5.51
20	55	5.57	5.5	5.54	25	93	5.6	5.59	5.595	20	65	5.54	5.58	5.56
21	58	5.53	5.58	5.56	26	98	5.48	5.49	5.485	21	66	5.48	5.47	5.48

22	62	5.56	5.59	5.58	27	99	5.64	5.65	5.645	22	68	5.57	5.58	5.58
24	67	5.49	5.51	5.50	28	100	5.52	5.53	5.525	23	72	5.58	5.58	5.58
27	81	5.47	5.45	5.46	29	105	5.56	5.5	5.53	24	73	5.57	5.55	5.56
29	96	5.42	5.44	5.43	30	80	5.45	5.42	5.435	25	74	5.57	5.56	5.57
30	86	5.58	5.58	5.58	23bt	64	5.52	5.55	5.535	26	79	5.49	5.5	5.50
1bi	245	5.57	5.58	5.58	25bt	69	5.55	5.53	5.54	27	82	5.62	5.60	5.61
5bi	267	5.51	5.54	5.53	26bt	71	5.63	5.62	5.625	28	88	5.43	5.42	5.43
8bi	274	5.56	5.58	5.57	26bt	84	5.59	5.6	5.595	29	92	5.57	5.58	5.58
15bi	57	5.49	5.51	5.50						30	102	5.55	5.54	5.55
20bi	78	5.44	5.45	5.45						31				
Media				5.526	Media				5.543	Media				5.535
Desviación estándar				0.049	Desviación estándar				0.059	Desviación estándar				0.058
Coeficiente de variación (%)				0.9	Coeficiente de variación (%)				1.1	Coeficiente de variación (%)				1.0

Tabla A2: Valores de pH determinados 1 días post- descongelación.

<i>Bos taurus</i>						<i>Bos indicus</i>						<i>Bos taurus x Bos indicus</i>					
ID. Muestra	No. Canal	pH1	pH2	pH3	Media	ID. Muestra	No. Canal	pH1	pH2	pH3	Media	ID. Muestra	No. Canal	pH1	pH2	pH3	Media
1	241	5.72	5.73	5.72	5.72	2	247	5.60	5.61	5.60	5.60	1	244	5.75	5.74	5.75	5.75
2	242	5.63	5.62	5.63	5.63	3	259	5.82	5.83	5.82	5.82	2	256	5.56	5.55	5.56	5.56
3	243	5.45	5.46	5.45	5.45	4	264	5.40	5.42	5.40	5.41	3	257	5.64	5.66	5.64	5.65
4	246	5.66	5.66	5.66	5.66	6	266	5.62	5.63	5.62	5.62	4	262	5.57	5.55	5.57	5.56
5	250	5.73	5.72	5.73	5.73	7	270	5.64	5.63	5.64	5.64	5	265	5.58	5.59	5.58	5.58
6	252	5.62	5.64	5.62	5.63	9	275	5.60	5.63	5.60	5.61	6	273	5.45	5.46	5.45	5.45
7	260	5.47	5.46	5.47	5.47	10	276	5.56	5.55	5.56	5.56	7	278	5.83	5.82	5.83	5.83
8	263	5.80	5.78	5.80	5.79	11	280	5.57	5.57	5.57	5.57	8	283	5.66	5.68	5.66	5.67
9	268	5.52	5.50	5.52	5.51	12	51	5.59	5.57	5.59	5.58	9	258	5.60	5.62	5.60	5.61
10	269	5.37	5.36	5.37	5.37	13	52	5.57	5.59	5.57	5.58	10	255	5.44	5.42	5.44	5.43
11	271	5.63	5.62	5.63	5.63	14	56	5.76	5.75	5.76	5.76	11	254	5.88	5.89	5.88	5.88
12	272	5.78	5.77	5.78	5.78	16	63	5.58	5.54	5.58	5.57	12	253	5.70	5.71	5.70	5.70
13	277	5.48	5.47	5.48	5.48	17	70	5.51	5.57	5.51	5.53	13	251	5.76	5.77	5.76	5.76
14	279	5.76	5.74	5.76	5.75	18	76	5.70	5.73	5.70	5.71	14	248	5.69	5.70	5.69	5.69
15	281	5.65	5.63	5.65	5.64	19	77	5.87	5.86	5.87	5.87	15	261	5.53	5.54	5.53	5.53
16	282	5.64	5.62	5.64	5.63	21	80	5.49	5.48	5.49	5.49	16	54	5.70	5.71	5.70	5.70
17	249	5.58	5.56	5.58	5.57	22	83	5.42	5.41	5.42	5.42	17	59	5.72	5.73	5.72	5.72
18	49	5.39	5.42	5.39	5.40	23	85	5.64	5.65	5.64	5.64	18	60	5.57	5.58	5.57	5.57
19	53	5.63	5.62	5.63	5.63	24	87	5.64	5.66	5.64	5.65	19	61	5.64	5.63	5.64	5.64
20	55	5.61	5.63	5.61	5.62	25	93	5.71	5.70	5.71	5.71	20	65	5.62	5.60	5.62	5.61
21	58	5.82	5.85	5.82	5.83	26	98	5.61	5.62	5.61	5.61	21	66	5.61	5.62	5.61	5.61
22	62	5.71	5.72	5.71	5.71	27	99	5.57	5.58	5.57	5.57	22	68	5.64	5.63	5.64	5.64
24	67	5.82	5.83	5.82	5.82	28	100	5.63	5.60	5.63	5.62	23	72	5.72	5.72	5.72	5.72
27	81	5.65	5.66	5.65	5.65	29	105	5.58	5.59	5.58	5.58	24	73	5.46	5.45	5.46	5.46
29	96	5.64	5.65	5.64	5.64	30	80	5.71	5.72	5.71	5.71	25	74	5.72	5.71	5.72	5.72

30	86	5.66	5.64	5.66	5.65	23bt	64	5.70	5.68	5.70	5.69	26	79	5.71	5.72	5.71	5.71
1bi	245	5.65	5.64	5.65	5.65	25 bt	69	5.51	5.53	5.51	5.52	27	82	5.62	5.63	5.62	5.62
5bi	267	5.68	5.67	5.68	5.68	26 bt	71	5.69	5.71	5.69	5.70	28	88	5.69	5.68	5.69	5.69
8bi	274	5.59	5.61	5.59	5.60	28 bt	84	5.76	5.78	5.76	5.77	29	92	5.60	5.61	5.60	5.60
15bi	57	5.72	5.74	5.72	5.73							30	102	5.64	5.63	5.64	5.64
20 bi	78	5.65	5.66	5.65	5.65												
Media					5.64	Media					5.62	Media					5.64
Desviación estándar					0.116	Desviación estándar					0.107	Desviación estándar					0.103
Coeficiente de variación (%)					2.052	Coeficiente de variación (%)					1.898	Coeficiente de variación (%)					1.819

Anexo B. Color

Tabla B1: Valores de perfil de color (L, a*, b*) determinados a las 24 horas *post-mortem*.

<i>Bos taurus</i>					<i>Bos indicus</i>					<i>Bos taurus x Bos indicus</i>				
ID. Muestra	No. Canal	L	a*	b*	ID. Muestra	No. Canal	L	a*	b*	ID. Muestra	No. Canal	L	a*	b*
1	241	43.65	19.46	18.56	2	247	40.04	21.03	16.02	1	244	41.07	19.01	16.02
2	242	40.25	19.84	17.00	3	259	37.19	19.32	13.32	2	256	39.03	20.02	15.67
3	243	36.4	17.37	14.34	4	264	42.03	22.45	17.88	3	257	38.05	18.65	14.65
4	246	40.16	19.65	15.76	6	266	38.07	19.67	17.02	4	262	43.54	20.65	18.00
5	250	44.38	20.05	17.00	7	270	40.94	19	16.04	5	265	49.01	17	16.34
6	252	44.42	21.87	19.54	9	275	39.85	18.17	14.76	6	273	43.23	19.87	16.32
7	260	41.65	23.65	18.67	10	276	37.9	16.34	13.01	7	278	37.02	18.65	15.76
8	263	35.4	15.63	12.03	11	280	41.45	20.01	17.00	8	283	38.65	17.76	14.51
9	268	41.44	20.04	16.32	12	51	41.47	21.35	18.21	9	258	42.13	22.45	17.32
10	269	40.07	19.32	15.34	13	52	42.7	19.34	16.54	10	255	43	19.78	17.12
11	271	40.04	19.3	14.23	14	56	40.56	18.05	16.76	11	254	37.02	21.01	16.00
12	272	40	17.89	13.21	16	63	41.17	22	17.87	12	253	37.06	19.56	15.76
13	277	41.4	18.11	16.32	17	70	43.02	20.89	18.76	13	251	37.98	21.32	16.21
14	279	40.71	21.03	16.98	18	76	38.57	18.01	14.01	14	248	42.06	19.32	16.11
15	281	40.7	17.98	15.23	19	77	41.13	15.12	14.15	15	261	36.6	19.04	14.22
16	282	42.32	22	16.98	21	80	40.05	18.87	15.59	16	54	32.89	19.21	14.47
17	249	42.89	17.34	15.23	22	83	40.03	16.34	14.68	17	59	36	17.11	14.04
18	49	41.78	21.65	17.79	23	85	48.46	19.31	17.98	18	60	40.05	22	18.41
19	53	45	19	16.94	24	87	36.02	19	14.01	19	61	37.23	18.34	16.32
20	55	40	19.12	15.74	25	93	41.06	20.12	16.87	20	65	36.69	17.76	13.76
21	58	38.07	21.95	15.24	26	98	42.79	18.47	14.56	21	66	44.67	20.05	18.21
22	62	39.02	17.23	14.56	27	99	43.54	20.98	17.01	22	68	43.89	18.03	16.03
24	67	37.01	20	15.43	28	100	42.28	19.32	16.65	23	72	40.78	15.01	13.25

27	81	36.05	16.87	12.85	29	105	44.77	21.02	17.20	24	73	42.76	21.12	18.31
29	96	41.44	17.54	15.12	30	80	39.09	17.76	15.43	25	74	39.22	21.54	15.64
30	86	37.06	16.34	13.42	23bt	64	37.03	17.82	14.34	26	79	37.1	15.6	12.21
1bi	245	40.6	17.43	16.53	25 bt	69	39	16.67	13.87	27	82	40.17	20.6	17.76
5bi	267	37.98	19.01	14.87	26 bt	71	37.73	17	13.43	28	88	36.04	18.32	14.81
8bi	274	42.26	19.32	14.98	28 bt	84	43.34	19.32	17.02	29	92	38.12	17.18	16.00
15bi	57	38.76	18	15.01						30	102	39.54	16.21	13.02
20 bi	78	39.42	16.23	13.23										
Media		40.333	19.039	15.627	Media		40.734	19.060	15.862	Media		39.687	19.072	15.742
Desviación estándar		2.475	1.926	1.760	Desviación estándar		2.638	1.790	1.666	Desviación estándar		3.361	1.872	1.613
Coefficiente de variación (%)		6.138	10.118	11.260	Coefficiente de variación (%)		6.477	9.390	10.502	Coefficiente de variación (%)		8.468	9.818	10.249

Tabla B2: Valores promedio de perfil de color (L, a*, b*) determinados 1 día post- descongelaación.

<i>Bos taurus</i>					<i>Bos indicus</i>					<i>Bos taurus x Bos indicus</i>				
ID. Muestra	No. Canal	L	a*	b*	ID. Muestra	No. Canal	L	a*	b*	ID. Muestra	No. Canal	L	a*	b*
1	241	44.68	17.84	17.25	2	247	39.94	18.88	15.55	1	244	40.37	17.34	14.86
2	242	40.36	18.16	15.59	3	259	37.94	16.19	12.38	2	256	39.24	17.84	14.51
3	243	37.4	15.23	13.49	4	264	41.29	20.33	16.72	3	257	37.95	16.54	13.35
4	246	39.81	17.32	14.69	6	266	38.09	17.96	15.26	4	262	44.61	18.57	17.13
5	250	43.38	18.79	15.97	7	270	41.29	17.77	15.20	5	265	48.41	15.12	15.09
6	252	45.28	20.71	18.34	9	275	39.55	15.91	13.02	6	273	42.74	17.69	15.43
7	260	40.77	20.92	17.59	10	276	36.97	14.56	11.86	7	278	38.98	16.88	14.46
8	263	36.4	12.46	10.66	11	280	42.16	17.48	16.09	8	283	37.97	15.35	13.48
9	268	40.53	19.3	15.65	12	51	43.47	18.19	16.74	9	258	41.45	20.09	16.53
10	269	40.07	17.6	14.66	13	52	40.58	16.98	15.01	10	255	43.9	17.26	15.94
11	271	41.04	16.8	13.09	14	56	40.76	16.89	15.10	11	254	36.61	18.24	14.55
12	272	40	15.3	12.07	16	63	42.91	19.24	17.16	12	253	38.38	17.84	14.59
13	277	41.94	16.68	15.42	17	70	42.53	18.6	17.25	13	251	38.19	18.44	14.52
14	279	41.71	18.76	16.00	18	76	38.87	15.22	12.95	14	248	41.53	17.68	15.00
15	281	40.9	16.72	14.14	19	77	42.31	13.04	13.28	15	261	36.6	17.5	13.01
16	282	42.13	19.55	16.76	21	80	39.52	16.64	14.67	16	54	32.25	16.77	13.56
17	249	43.63	14.98	14.36	22	83	40.69	14.11	13.45	17	59	36.4	14.59	12.76
18	49	41.81	18.86	16.62	23	85	50.46	16.1	17.01	18	60	39.47	19.59	17.11
19	53	45.29	16.8	16.35	24	87	36.83	16.29	12.66	19	61	38.07	16.08	15.79
20	55	39.17	16.78	14.87	25	93	41.06	17.36	15.57	20	65	37.06	15.95	12.49
21	58	37.07	19.47	14.38	26	98	40.29	16.11	13.28	21	66	44.49	17.94	16.91
22	62	39.34	14.56	13.80	27	99	42.22	17.15	15.16	22	68	43.46	15.76	14.82
24	67	36.91	18.08	14.11	28	100	42.02	17.15	15.25	23	72	40.81	12.39	11.93
27	81	37.39	14.49	12.30	29	105	44.77	17.22	16.16	24	73	41.59	19.76	17.16
29	96	41.14	14.93	13.91	30	80	39.97	15.67	14.32	25	74	38.98	18.1	14.22

30	86	36.77	14.52	11.96	23bt	64	37.03	15.5	13.12	26	79	36.93	12.62	11.16
1bi	245	41	16.63	15.26	25 bt	69	39.22	14.24	12.64	27	82	41.81	18.59	16.44
5bi	267	37.61	16.57	13.41	26 bt	71	38.97	13.09	12.22	28	88	36.98	16.14	13.79
8bi	274	41.26	16.91	14.34	28 bt	84	42.23	17.85	15.63	29	92	37.09	15.06	14.90
15bi	57	39.76	15.11	13.53						30	102	38.37	13.61	12.19
20 bi	78	38.14	14.16	12.14										
Media	40.409	16.935	14.604	Media	40.826	16.611	14.645	Media	39.690	16.844	14.589			
Desviación estándar	2.476	2.050	1.797	Desviación estándar	2.729	1.753	1.647	Desviación estándar	3.271	1.938	1.620			
Coefficiente de variación (%)	6.128	12.102	12.308	Coefficiente de variación (%)	6.685	10.556	11.243	Coefficiente de variación (%)	8.241	11.504	11.102			

Anexo C. Fuerza de corte (WBFS)

Tabla C1: Valores promedio determinados de fuerza de corte 1 día post- descongelación.

<i>Bos taurus</i>			<i>Bos indicus</i>			<i>Bos taurus x Bos indicus</i>		
ID. Muestra	No. Canal	WBSF (kg)	ID. Muestra	No. Canal	WBSF (kg)	ID. Muestra	No. Canal	WBSF (kg)
1	241	6.469	2	247	6.712	1	244	6.672
2	242	4.636	3	259	7.394	2	256	6.200
3	243	6.422	4	264	5.465	3	257	6.181
4	246	5.728	6	266	6.769	4	262	6.387
5	250	4.591	7	270	6.935	5	265	6.231
6	252	6.675	9	275	6.806	6	273	6.487
7	260	7.122	10	276	6.736	7	278	6.436
8	263	6.634	11	280	6.637	8	283	7.008
9	268	6.012	12	51	6.265	9	258	6.728
10	269	4.920	13	52	6.848	10	255	6.489
11	271	5.733	14	56	7.468	11	254	7.205
12	272	6.038	16	63	6.928	12	253	6.703
13	277	5.990	17	70	7.093	13	251	6.003
14	279	6.121	18	76	6.739	14	248	6.088
15	281	6.541	19	77	7.411	15	261	5.902
16	282	6.081	21	80	6.735	16	54	6.358
17	249	5.832	22	83	6.810	17	59	6.958
18	49	5.296	23	85	6.726	18	60	6.035
19	53	5.206	24	87	7.218	19	61	5.936
20	55	6.129	25	93	7.340	20	65	6.255
21	58	6.276	26	98	7.910	21	66	6.636
22	62	5.795	27	99	6.817	22	68	7.149
24	67	6.467	28	100	5.968	23	72	5.818

27	81	5.644	29	105	6.572	24	73	5.648
29	96	5.527	30	80	6.970	25	74	6.753
30	86	6.351	23 bt	64	6.358	26	79	6.123
1bi	245	7.274	25bt	69	5.718	27	82	5.945
5bi	267	6.587	26 bt	71	6.057	28	88	7.983
8 bi	274	7.354	28 bt	84	6.670	29	92	6.069
15 bi	57	6.718				30	102	5.782
20bi	78	6.408						
Media		6.083	Media		6.861	Media		6.406
Desviación estándar		0.688	Desviación estándar		0.527	Desviación estándar		0.509
Coeficiente de variación (%)		11.325	Coeficiente de variación (%)		7.796	Coeficiente de variación (%)		7.959

Anexo D. ADN

Tabla D1: Valores ajustados de concentración de ADN.

<i>Bos taurus</i>				<i>Bos indicus</i>				<i>Bos taurus x Bos indicus</i>			
ID. Muestra	No. Canal	260/280	ng/ul	ID. Muestra	No. Canal	260/280	ng/ul	ID. Muestra	No. Canal	260/280	ng/ul
1	241	1.88	78.5	2	247	1.85	92.0	1	244	1.84	66.7
2	242	1.76	64.2	3	259	1.71	73.1	2	256	1.86	60.9
3	243	1.83	63.4	4	264	1.71	72.2	3	257	1.82	59.3
4	246	1.92	70.6	6	266	1.81	61.6	4	262	1.80	60.1
5	250	1.87	64.5	7	270	1.89	69.1	5	265	1.82	62.6
6	252	1.84	83.2	9	275	1.87	61.9	6	273	1.84	68.1
7	260	1.89	63.7	10	276	1.76	64.3	7	278	1.82	68.4
8	263	1.75	60.5	11	280	1.85	105.0	8	283	1.91	63.9
9	268	1.87	64.8	12	51	1.91	71.4	9	258	1.77	68.6
10	269	1.87	65.9	13	52	1.86	79.3	10	255	1.77	68.7
11	271	1.89	60.6	14	56	1.85	91.6	11	254	1.84	79.2
12	272	1.79	87.9	16	63	1.84	97.8	12	253	1.79	86.7
13	277	1.81	66.7	17	70	1.86	92.5	13	251	1.94	69.0
14	279	1.90	74.2	18	76	1.85	85.7	14	248	1.87	64.0
15	281	1.87	63.0	19	77	1.84	83.7	15	261	1.83	73.0
16	282	1.84	78.4	21	80	1.84	83.7	16	54	1.78	88.1
17	249	1.87	97.1	22	83	1.77	88.3	17	59	1.87	90.5
18	49	1.86	66.3	23	85	1.89	91.5	18	60	1.83	84.9
19	53	1.81	76.6	24	87	1.83	89.1	19	61	1.79	76.9
20	55	1.88	84.3	25	93	1.81	93.8	20	65	1.80	72.7
21	58	1.80	104.2	26	98	1.88	84.5	21	66	1.81	93.0
22	62	1.81	71.1	27	99	1.89	96.2	22	68	1.84	83.2
24	67	1.77	74.5	28	100	1.81	86.7	23	72	1.85	77.7

27	81	1.81	84.4	29	105	1.91	62.9	24	73	1.86	88.9
29	96	1.89	65.3	30	80	1.87	98.0	25	74	1.86	72.7
30	86	1.90	98.7	23bt	64	1.81	103.1	26	79	1.78	66.2
1bi	245	1.92	91.2	25 bt	69	1.91	61.3	27	82	1.73	63.7
5bi	267	1.82	66.2	26 bt	71	1.85	59.1	28	88	1.79	81.5
8bi	274	1.83	78.7	28 bt	84	1.90	76.8	29	92	1.77	97.6
15bi	57	1.83	90.3					30	102	1.81	69.2
20 bi	78	1.81	79.6								

Anexo E. Genotipificación

Tabla E1: Genotipos de cada SNP determinados mediante PCR-RFLP.

<i>Bos taurus</i>					<i>Bos indicus</i>					<i>Bos taurus x Bos indicus</i>				
ID. Muestra	G530A	C357G	G179A	G118A	ID. Muestra	G530A	C357G	G179A	G118A	ID. Muestra	G530A	C357G	G179A	G118A
1	GG	GC	GG	GG	2	GG	CC	GA	GG	1	GG	CC	GG	GG
2	GA	GC	AA	GA	3	GG	GC	GA	GA	2	GG	CC	GA	GG
3	GG	GC	GA	GG	4	GG	CC	GA	GA	3	GA	GC	GA	GA
4	GA	CC	GA	GG	6	GG	CC	AA	GA	4	GG	CC	GA	GG
5	GG	GC	GA	GG	7	GG	CC	AA	AA	5	GG	GC	GG	GG
6	GG	GC	GA	GA	9	GG	GG	GG	GG	6	GG	CC	GG	GG
7	GA	GC	GA	GG	10	GG	CC	AA	GA	7	GG	GC	GA	GG
8	GG	CC	GG	GA	11	GG	GG	AA	GG	8	GG	CC	AA	GG
9	GG	GG	GA	GA	12	GG	CC	GA	GA	9	GG	CC	GA	GG
10	GG	CC	GG	GA	13	GG	CC	GA	GA	10	GG	CC	AA	GG
11	GG	CC	GG	GG	14	GG	GC	GA	GG	11	GA	CC	GA	GA
12	GG	CC	GG	GG	16	GG	CC	GA	AA	12	GA	CC	GA	GA
13	GG	CC	AA	GA	17	GG	CC	GA	GG	13	GA	GG	AA	GA
14	GG	CC	AA	GA	18	GG	CC	GG	GG	14	GA	CC	AA	GA
15	GG	GG	GG	GG	19	GG	GG	GG	GA	15	GA	CC	GA	GA
16	GG	CC	AA	GA	21	GG	GC	AA	GA	16	GG	CC	GA	GG
17	GG	CC	GA	GA	22	GG	GG	GA	AA	17	GA	CC	GG	GA
18	AA	CC	AA	GG	23	GA	CC	GA	GG	18	GG	CC	GA	GG
19	GG	GC	GA	GA	24	GG	CC	GG	GG	19	GG	CC	GA	GG
20	GG	GC	GA	GG	25	GG	CC	GA	GA	20	GG	CC	GA	GG
21	GG	GC	GA	GA	26	GG	CC	GA	GG	21	GG	CC	GA	GG
22	GA	CC	GA	GG	27	GG	CC	AA	GA	22	GG	CC	GG	GG

24	GG	CC	AA	GG	28	GG	CC	GA	GG	23	GG	CC	AA	GG
27	GG	CC	GA	GG	29	GG	CC	AA	GA	24	GA	CC	GA	GA
29	GG	GC	GA	GG	30	GG	CC	AA	GA	25	GG	CC	GA	GG
30	GA	GC	GA	GA	23 bt	GG	CC	AA	GA	26	GG	CC	GA	GG
1bi	GG	CC	AA	GA	25bt	GA	CC	GA	GG	27	GA	CC	GA	GA
5bi	GG	CC	GG	GA	26 bt	GG	CC	GA	GG	28	GA	CC	GA	GA
8 bi	GG	CC	GG	GG	28 bt	GA	CC	GA	GA	29	GG	GC	GA	GG
15 bi	GG	CC	GA	GA						30	GA	CC	GG	GA
20bi	GA	GC	GA	GG										