



# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN



Desde los comienzos de la domesticación, el hombre ha seleccionado los animales basándose en los fenotipos observables y/o medibles de cada individuo. La existencia de diferencias entre individuos y entre razas ha permitido obtener animales con características deseables, diferentes según la zona, el tipo y objetivo de producción. Durante el siglo XX, el desarrollo de modelos matemáticos, la genética cuantitativa y la computación, han permitido un gran avance, celeridad y exactitud en los resultados de los programas de selección (Henderson y Quaas, 1976; Kirkpatrick y Heckman, 1989; Mrode, 2005). Sin embargo, este tipo de selección se encuentra a menudo con diversas dificultades: i) la heredabilidad de muchos caracteres (mayoritariamente cuantitativos) suele ser baja, ii) algunos caracteres no son medibles en etapas tempranas, o *in vivo*, o en animales de ambos sexos. Por último, y pese a su demostrada eficiencia, la selección fenotípica no contempla completamente la variabilidad genética, ni las complejas interacciones génicas que dan como resultado los caracteres cuantitativos.

La biología molecular desde sus comienzos, ha buscado establecer relaciones entre diferentes marcadores (polimorfismos proteicos, fingerprintings, microsatélites, etc.) y caracteres productivos, para usarlos como predictores del valor de cría del animal y por lo tanto, como herramientas para la selección (Andersson *et al.*, 1991; Dolf *et al.*, 1991; Georges *et al.*, 1993). A partir del desarrollo de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se han utilizado muchos tipos diferentes de análisis para el estudio del polimorfismo genético en bovinos (Erlich, 1989). Entre ellos, se pueden citar la técnica de Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP, por *Restriction Fragment Length Polymorphism*); el Polimorfismo de la Conformación de Cadena Simple (SSCP, por *Single Strand Conformational Polymorphism*), el polimorfismo de Repeticiones Cortas en Tandem o microsatélites (STR, por *Short Tandem Repeats*) y la Secuenciación Directa (SBT, *Sequencing Based Typing*) (Orita *et al.*, 1989a; Theilmann *et al.*, 1989; Steffen *et al.*, 1993; Suzuki *et al.*, 1993). Más recientemente el desarrollo de nuevas tecnologías de alta performance (Pirosecuenciación, TaqMan, microarray) han permitido el estudio de grandes poblaciones de individuos (Kuimelis *et al.*, 1997; Ronaghi, 2001; Sobrino *et al.*, 2005) y con ello la Selección Asistida por Marcadores (MAS, por *Marker Assisted Selection*).

El fin último de la genómica es conocer cuántos genes integran el genoma, como actúan estos, como está regulada su función y como interaccionan entre sí, para dar el

fenotipo final del individuo. En el caso particular de la genética zootécnica, el objetivo es conocer aquellos genes responsables de caracteres de importancia económica, y estar en condiciones de utilizarlos para mejorar la producción (mayor número de animales y más resistentes, cantidad y calidad de la carne por animal, etc.). Desde la generación del mapa de ligamiento bovino (Barendse *et al.*, 1994), los marcadores de ADN se han utilizado para identificar loci o regiones cromosómicas (QTL, por *Quantitative Trait Loci*) que afectan tanto a caracteres cualitativos como cuantitativos. El marcador puede estar asociado a un gen mayor, ligado a éste o a varios genes con efectos aditivos. En este sentido, los marcadores moleculares presentan una gran ventaja desde el punto de vista de la selección, pues tienen una segregación simple, son codominantes, su determinación es exacta, simple y puede realizarse a partir de la etapa embrionaria de un individuo.

Existen dos estrategias usualmente seguidas para encontrar genes o regiones responsables de una característica dada: la detección de QTLs y el estudio de genes candidatos. La detección de QTLs requiere un gran número de registros fenotípicos y generalmente se utiliza en caracteres de medición rutinaria, como el peso, altura, pelaje, cuernos, etc.; mientras que el estudio de genes candidatos se utiliza generalmente en características que no tienen una medición rutinaria, como la terneza, color de carne, marmoleo, etc. (Dekkers, 2004). La MAS aprovecha los polimorfismos genéticos y la asociación de sus alelos con caracteres de importancia económica para ser usados en selección. De este modo, la MAS podría tener un impacto teórico del 5 al 20% principalmente en caracteres donde la selección cuantitativa encuentra dificultades, como ser caracteres no medidos rutinariamente, o medibles tardíamente, o post-mortem, o en animales de un solo sexo (Weller, 2007).

## ***1.1 CRECIMIENTO CORPORAL***

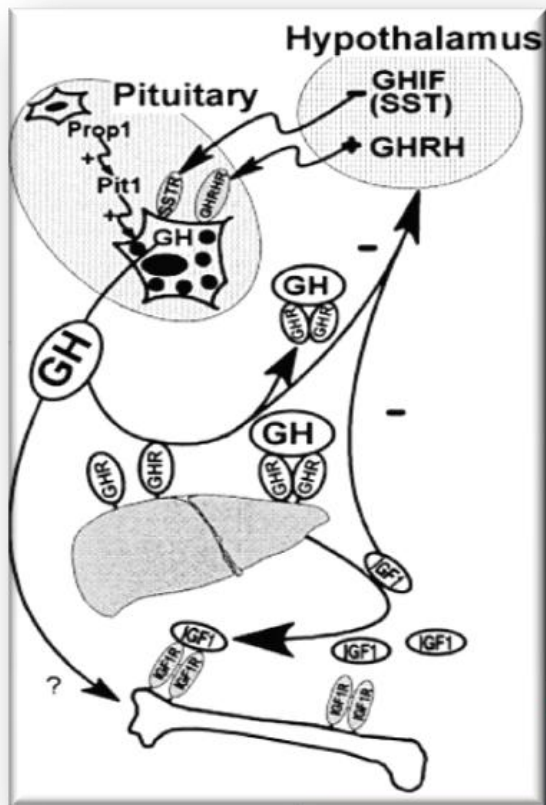
Dentro de los caracteres cuantitativos, el crecimiento corporal ha sido uno de los caracteres más estudiado debido a que varias medidas, sencillas de realizar, reflejan el crecimiento de un individuo: peso, altura, *frame* (calculado a partir de la altura al anca), ganancia diaria, etc. Por este motivo, desde el punto de vista molecular varios autores han detectado QTLs para diferentes caracteres asociados al crecimiento: peso al nacer, peso al destete, peso adulto, peso de faena, peso de carcasa, diferentes tasas de ganancia

diaria, etc. ([www.animalgenome.org/QTLdb/cattle.html](http://www.animalgenome.org/QTLdb/cattle.html); Casas *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2002; Mizoshita *et al.*, 2005; [www.vetsci.usyd.edu.au/reprogen/QTL\\_Map](http://www.vetsci.usyd.edu.au/reprogen/QTL_Map)).

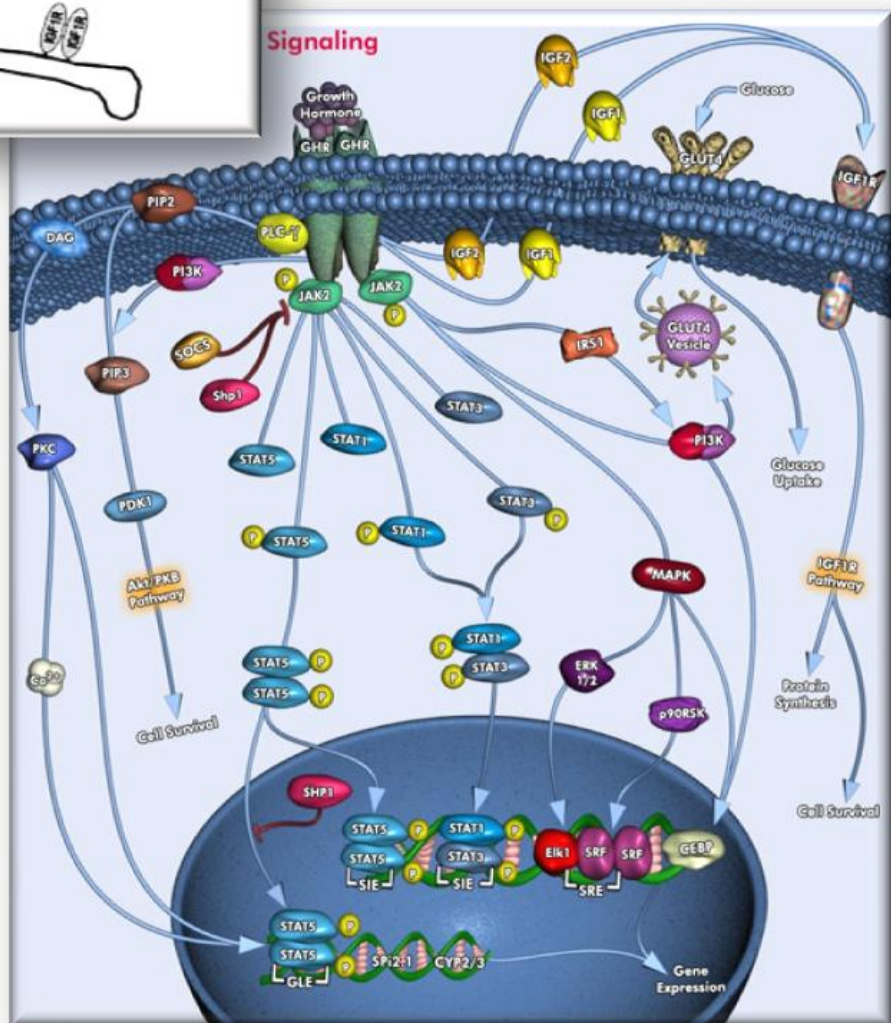
De las vías metabólicas asociadas al crecimiento, la de la hormona de crecimiento (GH, por *Growth Hormone*) ha recibido una mayor atención, ya que está implicada directamente en el desarrollo y crecimiento del animal (Bines y Hart, 1978; Gordon *et al.*, 1983; Cowan *et al.*, 1989; Ceelen 1995; Etherton, 2004). Las células somatotropas de la hipófisis anterior son las encargadas de la producción de GH, y su liberación está regulada a nivel hipotalámico, positivamente por la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH, *Growth Hormone Releasing Hormone*), y negativamente por la somatostatina (SST) (Chen, 2000; Cogan y Phillips, 2001; Renaville *et al.*, 2002). Una vez liberada la GH se une a su receptor GHRc y ejerce su efecto sobre los diferentes tejidos mediante una cascada de señalizaciones vía JAK2-STAT5 (Figura 1.1). La acción biológica de esta hormona sobre los tejidos puede englobarse en dos niveles:

- directo, principalmente sobre el metabolismo de lípidos e hidrocarburos.
- indirecto, a través de las somatomedinas (IGFs, por *Insulin Growth Factors*), liberadas principalmente en el hígado.

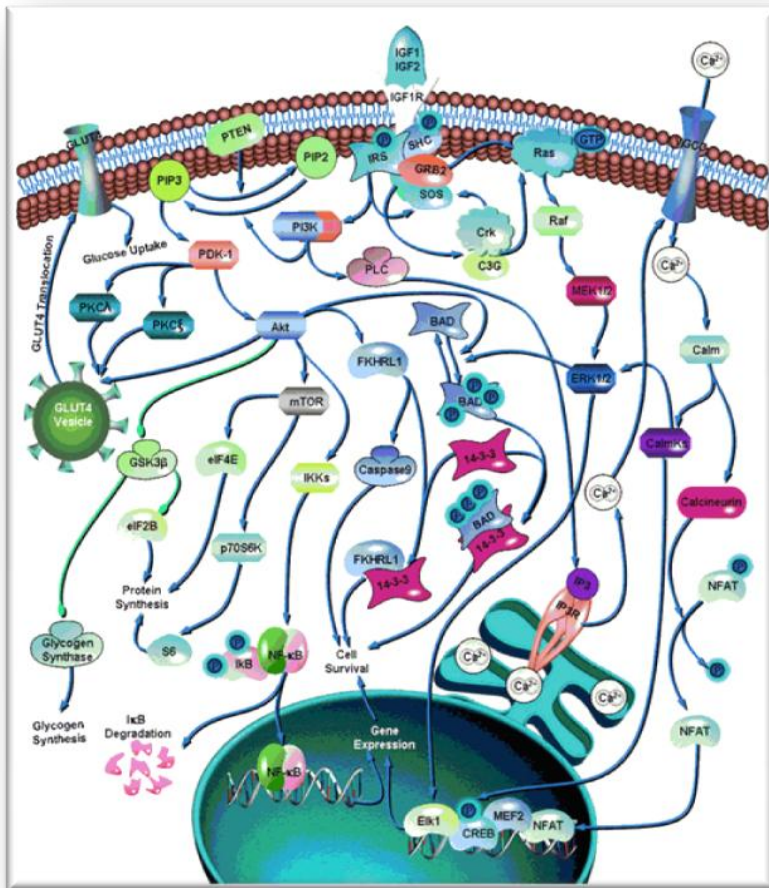
Desde el punto de vista del crecimiento corporal, el efecto directo de la GH se verá principalmente en las etapas tardías del crecimiento, a nivel de tejido muscular y adiposo. La dirección de los nutrientes hacia estos tejidos es afectada, provocando un aumento de la síntesis de proteínas y una disminución en la lipogénesis y la lipólisis (Etherton y Bauman, 1998). Sin embargo, en las primeras etapas del crecimiento del animal, mientras está en lactancia, la GH también influye a nivel materno (Bauman, 1999), regulando la producción de leche, y por lo tanto afectando la disponibilidad de nutrientes y el crecimiento del lactante. Se ha observado que la administración exógena de GH provoca un importante aumento (10 - 15%) de la producción láctea (Chillard, 1989). Por su parte el efecto indirecto (vía IGFs) se verá principalmente a nivel óseo y muscular. En general, los IGFs (IGF1 e IGF2) estimulan la replicación celular y ejercen otros efectos no relacionados con el crecimiento celular. En particular, en el músculo activan tanto la proliferación como la diferenciación celular. Sus efectos son mediados



**Figura 1.1:** A la izquierda, regulación de la vía de la hormona de crecimiento (Tomado de Cogan y Phillips, 2001). Abajo Cascada de señalización de la hormona de crecimiento. Tomada de <https://www1.qiagen.com/Geneglobe/PathwayView.asp/xpathwayID=212> (Fecha de ingreso: 15 - 02 - 2010).







**Figura 1.2:** Cascada de señalización de las somatomedinas I y II (IGF1 e IGF2). Tomada de [http://sabiosciences.com/pathway/phpsn\\_IGF1R\\_Signaling](http://sabiosciences.com/pathway/phpsn_IGF1R_Signaling) (Fecha de ingreso: 15-02-2010).

por el Receptor IGF1 (IGF1Rc, Figura 1.2), de tipo tirosinquinasa muy relacionado con el receptor de insulina (Navarro *et al.*, 1999). Durante la diferenciación de los miocitos aumenta su concentración 100 veces a nivel de membrana, por esto IGFs e IGF1R podrían actuar como factores autócrinos a nivel muscular (Tollefsen *et al.*, 1989).

Los factores de transcripción específicos del músculo juegan un

rol fundamental en la determinación y diferenciación celular. Estos, comprenden una familia de proteínas nucleares que comparten un 80% de similitud de secuencia, principalmente en un motivo hélice-bucle-hélice que interviene en la interacción con el ADN y la dimerización. La llamada familia MyoD incluye las proteínas MyoD, Myf5, Myf6 y miogenina (Brameld *et al.*, 1998). Se ha propuesto que MyoD y Myf5 actuarían en la determinación de los linajes celulares musculares, y posiblemente en la diferenciación. Esto fue encontrado en estudios con ratones *Knock Out* (mutantes para determinados genes). El trabajo realizado por Rudnicki *et al.* (1993) con ratones mutados en los genes codificantes para MyoD y Myf5, demostró que estos ratones nacían desprovistos de músculo esquelético. A nivel de diferenciación celular se observa que el efecto estimulante del IGF1 genera un aumento de la expresión de

miogenina y una disminución de la expresión de Myf5 (Florini *et al.*, 1991; Mangiacapra *et al.*, 1992).

A nivel genético, varios polimorfismos encontrados en estos genes han sido asociados con caracteres de crecimiento. Así es el caso del gen de la GH, que fue mapeado a la región cromosómica 19q26-qter en bovinos (Hediger *et al.*, 1990), y en el cual han sido informados varios polimorfismos (Hallerman *et al.*, 1987; Høj *et al.*, 1993; Yao *et al.*, 1996; Chikuni *et al.*, 1997). La hormona secretada consta de 191 aminoácidos (aa) y posee una gran homología (90%) con la GH porcina, aunque no tanto (35%) con la GH humana (Etherton y Bauman, 1998). Algunos de los polimorfismos informados en bovinos han sido asociados con peso al nacimiento, ganancia diaria pre-destete y ganancia diaria post-destete (Taylor *et al.*, 1998; Reis *et al.*, 2001; Ge *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2007). Por su parte el gen del GHRC ha sido ubicado en el cromosoma 20 (Moody *et al.*, 1995), codifica para una proteína transmembrana de 620 aa: 246 aa extracelulares que incluyen el sitio de unión de la GH, 24 aa transmembrana y 300 aa que comprenden el dominio citoplasmático. Dentro del dominio extracelular se han encontrado varios segmentos relacionados con la transmisión de señal intracelular (Wang y Wood, 1995). En cuanto a su influencia en los caracteres de crecimiento, varios autores han asociado polimorfismos del gen con medidas corporales, tasa de ganancia de peso, peso vivo y de la res (Hale *et al.*, 2000; Curi *et al.*, 2005; Di Stasio *et al.*, 2005).

Tanto el gen del IGF1 como del Myf5 se encuentran en el cromosoma 5 (BTA5) (Li *et al.*, 2004), en este cromosoma tres regiones cromosómicas (0 a 30 cM, 55 a 70 cM, and 70 a 80 cM) han sido asociadas con diferentes caracteres relacionados con el crecimiento (Casas *et al.*, 2000; McClure *et al.*, 2010). Myf5 ha sido mapeado alrededor de los 20 cM, en la zona de 0 a 30 cM, e IGF1 alrededor de 70 cM, dentro de la región 55 a 80 cM (Ihara *et al.*, 2004). En ambos genes se han detectado polimorfismos que resultaron asociados con diferentes caracteres de crecimiento. Li *et al.* (2004) encontraron un SNP en el Myf5 con asociación significativa para tasa de ganancia en diferentes etapas del crecimiento, pre-destete y en engorde. Por su parte, el IGF1 ha tenido un mayor estudio, tanto a nivel humoral como genético. Varios trabajos han confirmado la asociación entre los niveles circulantes de IGF1 con diferentes caracteres (Anderson *et al.*, 1988; Graml *et al.*, 1994; Kitagawa *et al.*, 2001), y diferentes



polimorfismos se han relacionado con peso al nacer, peso al destete y peso de faena (Moody *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2004; Andrade *et al.*, 2008). Sin embargo, han habido resultados contradictorios, que ponen en duda su real influencia (Ge *et al.*, 2001; Curi *et al.*, 2005).

## 1.2 COLOR DE LA CARNE

La calidad de la carne es un carácter difícil de definir en términos objetivos, ya que depende en gran medida de percepciones subjetivas del consumidor. Aún así, podría definirse como la aceptabilidad que el producto tendría en un mercado específico. Por esto, son utilizados una serie de atributos para caracterizar la calidad de la carne, ejemplo de ello son la terneza, el color, el sabor y la jugosidad. Recientemente, consumidores más conscientes sobre el impacto de la carne en la salud y el bienestar, han agregado a estas variables otros factores, como el contenido de lípidos y colesterol, e incluso ciertas propiedades nutracéuticas (Scollan *et al.*, 2006).

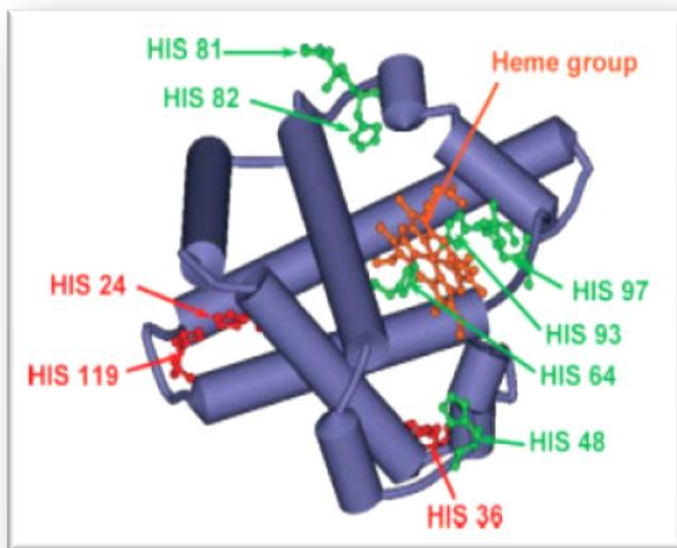
La carne que llega al consumidor, y por consecuencia sus atributos, está influenciada por una cantidad importante de factores: genéticos, ambientales y de transporte y procesamiento en toda la cadena. Se han realizado numerosos estudios en bovinos y en otras especies sobre gran parte de estas variables, buscando determinar el efecto de cada factor y en particular el de los factores genéticos (Priolo, 2001, Behrends *et al.*, 2003, Boles *et al.*, 2004, Dunne *et al.*, 2006, Walshe, 2006). En bovinos, los efectos genéticos que influyen en el color de la carne han sido poco estudiados. Esto se debe a la gran dificultad que presenta la medición del color de la carne *in vivo* sin dañar al músculo, además del gran efecto que tienen los factores de procesamiento sobre el color final de la carne, hecho que dificulta la homogenización de las medidas. No obstante, este atributo es de gran importancia a la hora de formar el precio de la carne, ya que el mismo es especialmente relevante para el consumidor (Ouali, 2006). La importancia económica de este factor fue calculada por Smith *et al.* (2000) en 1000 millones de dólares anuales en pérdidas, ya que un 15% de la carne vacuna pierde valor debido a la decoloración de la superficie.

Existen evidencias a nivel de la industria frigorífica que muestran una variabilidad en el color de la carne entre diferentes individuos independientemente de su raza, edad, pH, proceso de faena y transporte. En este sentido los factores genéticos

podrían ser responsables de dichas variaciones, como ya fue informado en la carne porcina (Otto *et al.*, 2007). Estos autores encontraron una influencia de varios marcadores (MC4R, LDHA, GLUT4, HMGA1, CAST) en dos de los parámetros colorimétricos usualmente utilizados. Por lo tanto, un estudio de los genes que influyen en el color final de la carne y de su variabilidad, podría ayudar a la selección de individuos que produzcan carne de mejor color y más estable en el tiempo.

### 1.2.1 Bases moleculares del color: elección del gen de la mioglobina

A nivel molecular la carne debe su tonalidad rojiza principalmente a la mioglobina, y sus gradaciones estarán dadas por la cantidad de ésta, y sus derivados, presentes en el tejido al momento de la observación (Tang *et al.*, 2004). La mioglobina es una proteína sarcoplasmática de 153 aa, que forman 8  $\alpha$ -hélices (A-H) unidas por segmentos cortos no-helicoidales (Figura 1.3). Dentro de su estructura primaria, las histidinas (His) son los residuos aminoacídicos de mayor importancia por su función.



**Figura 1.3:** Estructura 3-D de la mioglobina obtenida con Accelrys Software Inc. 3D (<http://www.accelrys.com/products/dstudio/>) tomada de Suman *et al.* (2007).

La estructura terciaria de la mioglobina genera un bolsillo hidrofóbico donde se aloja el grupo prostético: un grupo Hemo con un átomo de hierro en su centro. El hierro puede generar 6 enlaces, cuatro de los cuales se unen al anillo pirrólico a través de átomos de N, mientras que una 5<sup>ta</sup> posición está ocupada por la His-93 proximal, la sexta posición genera enlaces reversibles y es donde se une el O<sub>2</sub> proveniente de la sangre.

La His-64 distal influye estéricamente en este bolsillo hidrofóbico, afectando de este modo también el color (Mancini y Hunt, 2005).

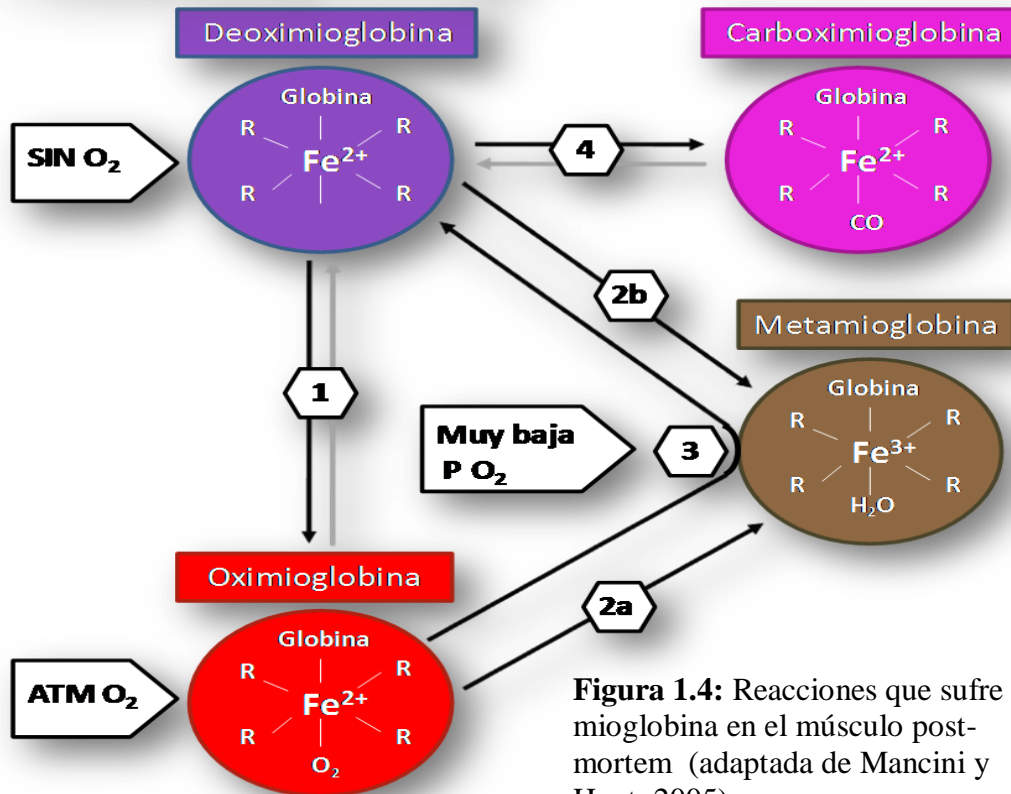
En la carne la mioglobina existe en cuatro formas según el estado de oxidación del hierro central y que ligando este unido a la 6<sup>ta</sup> posición del Fe:

- Deoximioglobina (DMb) que está libre de oxígeno y en estado ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ), de color púrpura y presente en la carne envasada al vacío.
- Oximioglobina (OMb) con oxígeno unido y en estado  $\text{Fe}^{+2}$ , de color rojo cereza.
- Metamioglobina (MMb) con oxígeno unido y en estado férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ), de color marrón.
- Carboximioglobina (COMb), con una molécula de Monóxido de Carbono (CO) unido en la 6<sup>ta</sup> posición y en estado  $\text{Fe}^{+2}$ , de color rojo/rosa brillante.

Una vez faenado el animal, el músculo pasa por diferentes procesos fisicoquímicos hasta convertirse en carne. La Figura 1.4 representa las diferentes reacciones relacionadas con el color que suceden durante ese proceso:

1. Oxigenación: cuando la DMb es expuesta al Oxígeno atmosférico esta une el  $\text{O}_2$  en la 6<sup>ta</sup> posición libre y forma OMb. Adicionalmente, la His-64 distal interacciona con el  $\text{O}_2$  ligado alterando la conformación y estabilidad de la proteína.
2. Oxidación: OMb y DMb pasan por este proceso, en que el  $\text{Fe}^{+2}$  central pasa a  $\text{Fe}^{+3}$  dando como resultado MMb. Este proceso es dependiente de diferentes factores como la presión parcial de oxígeno ( $p\text{O}_2$ ), temperatura, pH, luz, crecimiento microbiano, oxidación lipídica, etc. (Faustman y Cassens, 1990).
3. Reducción: MMb puede pasar a DMb, debido a la acción de la mioglobina reductasa (sistema enzimático reductor), con el consumo de  $\text{O}_2$ , y NADH. Estos dos reactivos son consumidos constantemente por el músculo post-mortem, con lo cual esta reacción queda detenida al cabo de un determinado tiempo. En este sentido, Bekhit *et al.* (2003) plantearon que la concentración de NADH sería más importante que la actividad de la MMB reductasa, en la estabilidad del color de la carne.
4. Carboxilación: La presencia de CO en la célula, ya sea como residuo del metabolismo o proveniente de la atmósfera, puede provocar su ingreso en la 6<sup>ta</sup> posición de coordinación vacante. Este proceso despierta fundamental interés debido a los nuevos sistemas de packaging con atmósferas modificadas.

- 1 (Oxigenación):  $DMb + O_2 \rightarrow OMb$   
 2a (Oxidación):  $OMb + [\text{Consumo de } O_2 \text{ o Baja } PO_2] - e^- \rightarrow MMb + O_2^-$   
 2b (Oxidación):  $[DMb - \text{hidroxilo} - \text{hidrogenión}] + O_2 \rightarrow MMb + O_2^-$   
 3 (Reducción):  $MMb + \text{consumo de } O_2 + \text{metamioglobina reductasa} \rightarrow DMb$   
 4 (Carboxilación):  $DMb + CO \rightarrow COMb$



**Figura 1.4:** Reacciones que sufre la mioglobina en el músculo post-mortem (adaptada de Mancini y Hunt, 2005).

La estabilidad de las diferentes mioglobinas ha sido estudiada en relación a la presencia de diferentes metabolitos y productos derivados del catabolismo post-mortem (Faustman y Cassens, 1991, Chan *et al.*, 1997). Se ha sugerido que la estructura primaria de la Mb bovina (más rica en His) predispone al ataque nucleofílico por parte de aldehídos derivados de la peroxidación lipídica, cuando se la compara con la Mb porcina. Esta inestabilidad se evidencia en la formación de aductos en cuatro residuos histidínicos (His 36, 81, 88, and 152) (Suman *et al.*, 2007). Así variaciones en el gen de la Mb podrían ser causantes de diferencias tanto a nivel de estructura primaria (secuencia aminoacídica), como terciaria (conformaciones estéricas) de la proteína. El gen de la Mb fue mapeado en el BTA5 (De Donato *et al.*, 2003), en una región cercana a los 80 cM. Hasta la fecha ha sido informada muy poca variabilidad en este gen bovino

(Agaba, 1994). Por lo expuesto, este gen podría ser considerado como gen candidato para el estudio de las influencias genéticas en el color de la carne.

### **1.2.2 Grado de consumo de oxígeno y estado redox post-mortem: elección del gen de la enzima Glutathion S-transferasa P1**

Como hemos dicho, el músculo post-mortem experimenta una serie de procesos que lo convertirán finalmente en carne. Paralelamente a las reacciones en la mioglobina se generan un gran número de cambios a nivel de metabolitos intracelulares. Esto fue estudiado por Faustman y Cassens (1991), quienes midieron la variación en el tiempo de varios compuestos químicos durante la maduración de la carne (4°C). En el tiempo de estudio se observó por un lado, la disminución del contenido de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y de los sulfhidrilos no proteicos (NPSH), y por el otro, el aumento del disulfuro de glutatión (GSSG), hipoxantina, xantina, del porcentaje de MMb, de la relación GSSG/NPSH y del extracto total lipídico.

Aunque los mecanismos correspondientes a estos procesos no han sido completamente explicados, se ha demostrado que los factores más influyentes en la decoloración de la carne son la concentración residual de O<sub>2</sub> y la formación de radicales (Ouali, 2006). Más aún, O'Keefe y Hood (1982) demostraron que los músculos con mayor consumo de O<sub>2</sub> tienden a decolorarse más rápido. Por su parte, Ledward (1985), consideró que si bien el consumo de O<sub>2</sub> es importante en la estabilidad del color, el factor de mayor importancia sería la actividad enzimática reductora. En este sentido, Seyfert *et al.* (2006) estudiaron el color de la carne proveniente de diferentes músculos durante 7 días. Su investigación confirmó que durante el período, la actividad enzimática reductora de MMb disminuyó cada día, y conjuntamente, todos los músculos variaron su color hacia tonalidades más oscuras y menos rojas.

Por otro lado, se ha postulado que otros factores que afectan el estado redox de la célula, como los subproductos de la peroxidación lipídica, también intervienen en la decoloración. Los ácidos grasos monoinsaturados, y en particular el 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), serían metabolitos importantes que afectarían indirectamente la estabilidad del color (Chan *et al.*, 1997; Suman *et al.*, 2007). Varios autores han comprobado que las dietas y sistemas de producción de los animales pueden variar el

color de la carne. Determinadas dietas con Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) retrasan la peroxidación lipídica y el deterioro del color (Chan *et al.*, 1998; Faustman *et al.*, 1998), mientras que los sistemas de producción pastoriles y extensivos producen una carne más oscura, debido a un aumento del poder oxidativo del músculo (Vestergaard *et al.*, 2000).

El glutatión (GSH) es un tripéptido (Cisteína, Glicina, Glutamato) con poder reductor que da cuenta del 76% de los NPSH intracelulares de la carne (Faustman y Cassens, 1991). El GSH actúa captando radicales libres y participa como cofactor en la degradación del  $H_2O_2$  por parte de la peroxidasa, ambos potentes oxidantes (Nelson y Cox, 2000), además puede conjugarse con el 4-HNE y con el 4-hidroxicindecenal por acción de las GSH transferasas (Alin *et al.*, 1985; Ishikawa *et al.*, 1986). El efecto del GSH sobre la OMB bovina fue probado por Tang *et al.* (2003). Contrariamente a lo esperado, ellos encontraron un aumento de la formación de MMb por la adición *in vitro* de GSH a pH 7,2 y 25 o 37 °C. Sin embargo, cuando el mismo ensayo fue realizado en presencia del citoplasma muscular (en particular utilizando la fracción de alto peso molecular) el efecto era inverso, el GSH inhibía la formación de MMb, por lo tanto el efecto protector del GSH en el tejido es indirecto.

Dentro de las transferasas, la Glutation S-transferasa P1 (GSTP1) tiene función de detoxificación celular y de resistencia al estrés oxidativo (Lo Bello *et al.*, 2001), de alguna manera sirve como sensor del estado redox en la célula para la maquinaria apoptótica (Pastore *et al.*, 2003). Más aún, Gelfi *et al.* (2004) demostraron la sobreexpresión de GSTP1 en personas que viven en altas montañas (Tibet), las que se encuentran en condiciones de baja  $pO_2$ . En este sentido, como la carne es un tejido en apoptosis y con una  $pO_2$  baja, que desciende con el tiempo, la enzima GSTP1 podría jugar un rol particular en el mantenimiento del poder reductor en el tejido post-mortem. Por lo tanto, se eligió el estudio del gen de la enzima GSTP1 (BTA29 pos 47513674 - 47516542), admitiendo que variantes en el gen podrían ser responsables de diferencias en la expresión, en la estructura de la enzima, y/o en la actividad enzimática.



### **1.3 OBJETIVO**

#### **1.3.1 Objetivos generales**

El objetivo general de esta tesis fue el generar conocimiento en el área de la genómica: se presenta la detección de nuevos polimorfismos en genes candidatos, y la asociación de diferentes marcadores (informados y originales), con dos características de importancia económica a nivel productivo y de la cadena cárnica: crecimiento corporal y color de carne.

Así mismo, durante el período de trabajo se valoró la formación del recurso humano, reflejado en las diferentes estrategias para la detección de nuevos polimorfismos (PCR-SSCP-secuenciación y PCR-secuenciación directa), en los distintos tipos de marcadores (microsatélites y SNPs), y la diversidad de técnicas para la detección alélica (PCR-RFLP, PCR-Pyrosecuenciación, PCR-SSCP y PCR-resolución de fragmentos).

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

##### ***Crecimiento corporal***

- Desarrollo y/o optimización de diferentes técnicas de detección de polimorfismos a nivel de ADN: PCR-RFLP para el gen GH, PCR-pirosecuenciación para el gen GHRc y GH, amplificación de cinco microsatélites (BP1, ETH10, IGF1, RM029 y BM1824) en multiplex y análisis de fragmentos.
- Estudio de la variabilidad genética de estos marcadores en poblaciones de las razas Angus, Criollo Argentino y Hereford.
- Análisis del efecto de la selección sobre las frecuencias de estos marcadores, cercanos a genes candidatos. Evaluación el efecto sobre la variabilidad genética de los marcadores seleccionados debido a diferentes criterios de selección, a través del estudio comparativo de dos rodeos Hereford, y el efecto del tiempo, a través de la comparación de grupos generacionales.
- Determinación la asociación de los marcadores y las regiones cromosómicas del BTA5 (usando los genotipos de dos marcadores cercanos), con los BLUPs relacionados a crecimiento: peso al nacer directo, peso al destete directo, peso al destete materno, peso a los 400 y 600 días, y área de ojo de bife.

***Color de carne***

- Búsqueda polimorfismos genéticos de los genes candidatos Mb y GSTP1. En particular, la secuenciación de segmentos seleccionados que desde la teoría presentaban una importancia funcional.
- Análisis exploratorio de una posible asociación de los polimorfismos encontrados con diferentes parámetros colorimétricos, a partir de muestras obtenidas en frigorífico y evaluadas para color.
- Análisis exploratorio de una posible asociación de marcadores (microsatélites) cercanos al gen de la Mb.