

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**



**BIODIVERSIDAD GENÉTICA DE LA RAZA CHAROLAIS  
EN DIFERENTES REGIONES AGROECOLÓGICAS DE MÉXICO**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRIA EN CIENCIAS  
EN BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA**

**PRESENTA:**

**Q. F. B. Herlinda Elisea Puentes Montiel**

**Marzo, 2006**

**Cd. Reynosa, Tam.**



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESION DE DERECHOS**

En la Ciudad de Reynosa, Tamaulipas el día 28 del mes Abril del año 2006, el (la) que suscribe Herlinda Elisea Puentes Montiel alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica con número de registro B030909, adscrito a Centro de Biotecnología Genómica del IPN, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. Ana María Sifuentes Rincón y cede los derechos del trabajo intitulado “Biodiversidad genética de la raza Charolais en diferentes regiones agroecológicas en México”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección Blvd. del Maestro esq. con Elías Piña S/N Col. Narciso Mendoza, C.P. 88710 Cd. Reynosa, Tamaulipas, México Tels. 01-899 9243627, 9251656. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Herlinda Elisea Puentes Montiel  
Nombre y firma



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO**

*ACTA DE REVISION DE TESIS*

En la Ciudad de Reynosa, Tamps. siendo las 14:00 horas del día 07 del mes de Abril del 2006 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CBG para examinar la tesis de grado titulada:  
Biodiversidad genética de la raza Charolais en diferentes regiones agroecológicas en México.

Presentada por el alumno:

Puentes

Montiel

Herlinda Elisea

Apellido paterno

materno

nombre(s)

Con registro: 

B	0	3	0	9	0	9
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de:

Maestra en Ciencias en Biotecnología Genómica

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISION REVISORA**

Director de tesis

\_\_\_\_\_  
Dra. Ana María Sifuentes Rincón

\_\_\_\_\_  
M.C. Víctor Ricardo Moreno Medina

\_\_\_\_\_  
M. C. Cristian Lizarazo Ortega

\_\_\_\_\_  
M. C. Elma Laura Salazar Marroquin

\_\_\_\_\_  
M. C. Xochitl Fabiola de la Rosa Reyna

**EL PRESIDENTE DEL COLEGIO**

\_\_\_\_\_  
Dr. José Luis Hernández Mendoza  
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA GENOMICA

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Animal I del  
Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional  
bajo la dirección de la Dra. Ana María Sifuentes Rincón

## DEDICATORIA

*A mis Padres por otorgarme la vida  
y la oportunidad de estudiarla,  
tratando de entenderla.*

## **AGRADECIMIENTO ESPECIAL**

A mi directora de tesis, Dra. Ana Maria Sifuentes Rincón, por darme la oportunidad de ser parte de este trascendental proyecto de investigación, llevándome más allá de la tesis, al incluirme en una producción muy rica con dos artículos publicados, y brindándome la oportunidad de desenvolverme profesionalmente en más de un congreso y eventos académicos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres Delfina y Alfonso, también a mis hermanos Irma Sofía, Alfonso, Simón Alejandro y Delfina Esmeralda; a mis sobrinos Hans Osaretin, OB West, Alejandra, Delfina Edemakhiota, King Owen, Montserrat, Pablo Itzama, Ángel, Alfonso y Aurorita; a mi cuñado Stanley Friday, a mis cuñadas Luisa y Elenita y a mi amiga LuzMa por los incentivos e incondicional apoyo en todo momento. Por la certeza de nuestra constante unión y amor que ampara mis pasos, estando siempre segura de mis ideas.

A Cynthia, Roberto y Tere con mi cariño y gratitud, por su gentileza y compañerismo, por la amistad verdadera que compartimos.

Al Instituto Politécnico Nacional porque a través del Centro de Biotecnología Genómica por darme la oportunidad de incursionar en la investigación científica aplicada proporcionándome los recursos para desempeñarme académica y profesionalmente, al incluirme en el Programa Institucional de Formación de Investigadores PIFI y distinguiéndome con las Becas CGPI-IPN y SEP-CONACYT.

Por guiar mis primeros pasos en esta área del conocimiento y por la valiosa motivación recibida, gracias a mis maestros que de alguna manera han contribuido en mi desenvolvimiento académico y personal compartiéndome sus conocimientos y experiencia: Dr. Netzahuacóyotl Mayek Pérez, Dra. Ninfa María Rosas García, Dra. Claudia Patricia Larralde Corona, M. C. Ma. Antonia Cruz Hernández, Dr. Mario Alberto Rodríguez Pérez, Dr. Alberto Mendoza Herrera, Ing. Maurilio González Paz, Lic. Araceli Fernández, M. C. Cuauhtémoc Jacques Hernández, Ing. Felipe de Jesús Serrano Medina, Dr. José Luís Hernández Mendoza, Dra. Ana Maria Sifuentes Rincón, M. C. Elma Laura Salazar Marroquín, M. C. Xochitl Fabiola de la Rosa Reyna, M. C. Víctor Ricardo Moreno Medina y M. C. Cristian Lizarazo Ortega, Dr. Miguel Ángel Reyes López.

A María Trinidad Molina Solís por su inestimable apoyo en las actividades académicas con su asistencia en los servicios bibliotecarios.

A mis compañeros de laboratorio: Ana, Xóchitl, Amanda, Alex, Carlos, Víctor, Maurilio y Humberto, por su amistad, entusiasmo, ayuda, soporte científico y paciencia infinita que contribuyeron inmensamente en esta investigación guiando mis pasos y asegurando el exitoso termino de esta tesis.

A Maurilio González Paz por su valiosa aportación en el procesamiento de datos estadísticos.

A todos los integrantes del Centro del Biotecnología Genómica, Dr. José Luís, Dr. Miguel Ángel, Ing. Santamaría, Contador Chávez, Juanito, Roberto Blanco, Pablo Cabrera, Myriam, JJ, Cynthia, Toñita, Pablo Cruz, Xochitl, Erick, Silvia, Susy, Roberto Flores, Aleyda, Atilano, Ing. Chuy, Mau, Dr. Juan Manuel, Sanjuanita, Pablo Herrera, Oneyda, Rodrigo, Ing. Jacques, Patyla, Kristal, Cristian, Don Mario, Isaías, Mary Carmen Martínez, Aldo, Verónica, Dr. Mayek, Dr. Alberto, Trini, Rosy, Ing. Vic, Amanda, Paquito, Norita, Isa, Dr. Mario, Dra. Ninfa, Clau, Angel, Elma, Alex, Hilda, Ing. Serrano, Hanna, Alfredo, Sarita, Chuy, Sanson, Mary Carmen Quiroz, Rodolfo, Soco, Alba, Ulises, Betito, Heidy, Gil, Didi, Patylu, Di Carlo, Homar, Liz, Mariela y Maribel. Con afecto y correspondencia, a su atención y compañerismo, por la convivencia que fue imprescindible en mi formación personal y profesional.

A la comisión revisora de tesis: Dra. Ana Maria Sifuentes Rincón, M. C. Elma Laura Salazar Marroquín, M. C. Xochitl Fabiola de la Rosa Reyna, M. C. Víctor Ricardo Moreno Medina y M. C. Cristian Lizarazo Ortega por las observaciones y sugerencias para enriquecer el contenido y presentación.

A los propietarios de los hatos incluidos en esta investigación: Ing. Ricardo Maldonado González, Sr. Martín del Ángel Robles y su hija Ana Delia y al Lic. Gilberto Romero Cloud, por el apoyo técnico y facilidades prestadas.

Al MVZ Diego Saldivar por su apoyo técnico en los muestreos de los ranchos “La Querencia” y “El Jurel”.

Al Ing. Cesar Cantú por sus comentarios y aportación bibliográfica a este trabajo.

A Don Mario Loera Rodríguez, Juan Alberto Barrios García, Carlos Augusto López y Alejandro Sánchez Varela, por el inestimable apoyo técnico en los muestreos.

Al Ing. Álvaro García González y a Don Eduardo H. Garza González por la valiosa y constante motivación recibida, por su apoyo técnico y por incluirme siempre en las actividades y programas académicos que la Asociación Ganadera de Reynosa realiza para el buen desempeño de la ganadería de la región.



## ÍNDICE

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
ABREVIATURAS.....	ix
RELACIÓN DE CUADROS.....	xi
RELACIÓN DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xv
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>3</b>
2.1. Agrobiodiversidad.....	3
2.2. Estudio de la diversidad genética.....	3
2.3. Aplicación de los marcadores moleculares en estudios de diversidad.....	5
2.3.1. Marcadores tipo I.....	5
2.3.2. Marcadores tipo II.....	8
2.3.2.1. Nomenclatura para marcadores microsatélites de ADN.....	10
2.3.3. Marcadores tipo III.....	10
2.4. Medidas de la diversidad genética.....	11
2.4.1. Diversidad dentro de poblaciones.....	11
2.4.2. Diferenciación de poblaciones.....	12
2.5. Diversidad del ganado bovino.....	13
2.5.1. Estudios de diversidad genética en bovinos.....	13
2.5.2. Impacto de la selección artificial sobre la diversidad genética de bovinos.....	15
2.6. Razas que se explotan en México.....	16
2.6.1. La Raza Charolais.....	19
2.6.1.1. La raza Charolais en México.....	19
2.6.1.2. Normas de excelencia de la raza.....	23
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>25</b>



<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	60
<b>10. RECOMENDACIONES</b> .....	61
<b>11. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	62
<b>12. GLOSARIO</b> .....	72

## ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMOVA	Análisis de Varianza Molecular
BTA2	<i>Bos taurus</i> , cromosoma 2
cM	Centimorgan
dNTPs	Desoxirribonucleótidos trifosfatados
EDTA	Ácido Etilendiaminotetra-acético
6-FAM	6-Carboxil fluoresceína
$F_{IS}$	Coefficiente de consanguinidad
$F_{IT}$	Coefficiente de consanguinidad total de un individuo
$F_{ST}$	Índice de fijación
GDF-8	Factor de crecimiento y diferenciación 8 (Growth differentiation factor-8)
g	Gramos
$G_{ST}$	Coefficiente de diferenciación génica
$H_E$	Heterocigocidad esperada
$H_O$	Heterocigocidad observada
h	Horas
HW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
IA	Inseminación Artificial
ISAG	Sociedad Internacional de Genética Animal
kDa	KiloDalton
$\mu$ g	Microgramo
$\mu$ l	Microlitro
<i>mh</i>	Hipertrofia muscular
ml	Mililitro
MSTN	Miostatina
ng	Nanogramo
pb	Pares de bases (nucleótidos)
PIC	Contenido de información polimorfa (Polymorphic Information Content)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction)

pH	$-\log[H^+]$
SNPs	Polimorfismos de un solo Nucleótido
STRs	Repeticiones Cortas en Tandem
<i>Taq</i>	ADN polimerasa de <i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tranferencia de Embriones
TGF- $\beta$	Factor de Crecimiento y Transformación- $\beta$ (Transforming growth factor- $\beta$ )

## RELACIÓN DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Mutaciones en el gen Miostatina, por raza.....	7
2. Información relacionada con la utilización de los Recursos Genéticos Bovinos.....	18
3. Resumen del Cuestionario para la evaluación del desarrollo, morfología, comportamiento y limitaciones biológicas de ganado de la raza Charolais.....	29
4. Características de los microsatélites analizados.....	34
5. Programas de amplificación por PCR.....	35
6. Condiciones de PCR para los marcadores.....	36
7. Interpretación de valores de $F_{ST}$ .....	38
8. Frecuencias genotípicas y alélicas de la mutación del gen MSTN en ganado Charolais.....	40
9. Número de individuos analizados con el Programa SAGA <sup>GT</sup> por población y por <i>locus</i> .....	42
10. Número de alelos por <i>locus</i> encontrado en cada población.....	44
11. Frecuencias alélicas.....	45
12. Valores de $H_E$ , $H_O$ y $HW$ .....	50
13. Análisis de Varianza Molecular AMOVA.....	51

## RELACIÓN DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Clasificación de los microsatélites.....	9
2. Ejemplar de la raza Charolais. Rancho JR “La Nutria”.....	20
3. Ejemplar de la raza Charolais. Rancho “El Salitre”.....	22
4. Localización de la raza Charolais en México.....	22
5. Ubicación Geográfica de los hatos de Nuevo León: Rancho “JR La Nutria”; Rancho “La Querencia” .....	28
6. Ubicación Geográfica del hato de Veracruz: Rancho “El Jurel”.....	28
7. Esquema de Discriminación Alélica.....	33
8. Gel de electroforesis en el equipo LI-COR.....	41
9. Genotipificación en el programa SAGA <sup>GT</sup> . INRA37 rancho “La Nutria”.....	42
10. Genotipificación en el programa SAGA <sup>GT</sup> . ETH10 rancho “La Querencia”.....	43
11. Gráfica tridimensional del AFC con una población de Dublín.....	52
12. Dendrograma de distancias genéticas.....	53

## **Biodiversidad genética de la raza Charolais en diferentes regiones agroecológicas en México**

### **RESUMEN**

La caracterización genética de las poblaciones permite acceder a su variabilidad genética, la cual es un elemento crucial para determinar estrategias de crianza y programas de conservación. La evaluación de la diversidad genética es especialmente importante en las razas de ganado altamente especializadas, como lo es la raza Charolais, su estudio en México es importante para determinar el estado que guarda su diversidad genética, dado que su adaptación ha dependido del manejo reproductivo y los objetivos de selección que se han dado a la raza desde su introducción al país.

En este estudio se evaluó la variación genético-molecular en poblaciones de la raza de ganado Charolais de diferentes regiones agroecológicas de México. Utilizando marcadores moleculares del tipo I y II se obtuvieron datos genotípicos que permitieron definir el grado de variación genética en las poblaciones estudiadas.

Con el objetivo de analizar la frecuencia del alelo Q204X del gen MSTN, se utilizó un ensayo de discriminación alélica. Este alelo, en la raza Charolais provoca la pérdida de función de la proteína generando el fenotipo de doble musculatura y esta directamente asociado a la expresión de la conformación. Los resultados mostraron que existen diferencias en la carga genética en las tres poblaciones de la raza localizadas en el Noreste de México. Se analizaron 194 individuos con registro Full French encontrándose que 13 fueron portadores para el alelo Q204X del gen MSTN. Los porcentajes de frecuencias genotípicas encontradas fueron: AA = 0% en las tres poblaciones; AB = 9.3% (“El Jurel”), 2.81% (“La Querencia”) y 8.75% (JR “La Nutria”); BB = 90.7%, 97.18% y 91.25% respectivamente. La diferencia en las frecuencias del alelo en las tres poblaciones puede ser atribuida al manejo reproductivo y a los criterios de selección aplicados en cada una de ellas.

Mediante el uso de marcadores microsatélites se demostró que existe una amplia variabilidad alélica en las poblaciones estudiadas, lo cual se vio reflejado en los diferentes parámetros de diversidad como la Heterocigocidad (He) que presentó en promedio un valor



de 0.5, el cual coincide con los valores previamente reportados para la raza Charolais Europea.

El análisis de  $F_{ST}$  permitió determinar que existe una moderada pero significativa diferenciación ( $F_{ST} = 0.07970$ ;  $P = 0.00000$ ). La variación genética en las poblaciones estudiadas es principalmente atribuible al nivel de variación individual intra poblaciones con un valor del 92.03%, mientras que entre poblaciones se observó un 7.97% de variación. Estos valores de diferenciación son similares a los encontrados entre razas de diferentes especies de mamíferos. Se propone por lo tanto que los valores de diferenciación genética encontrados podrían ser considerados como evidencia de una posible formación de líneas genéticas de la raza, debido principalmente al origen del material genético, manejo reproductivo y/o criterio de selección aplicados en cada población.

## Genetic diversity of the Charolais breed in different regions from Mexico

### SUMMARY

The genetic characterization of the populations allows acceding to its genetic variability; it is a crucial element to determine breeding and conservation programs. The evaluation of the genetic diversity is specially important in those highly specialized cattle breeds, such as Charolais breed, therefore its study in Mexico is important to determine the present situation of its genetic diversity.

In this study the molecular variation in populations of Charolais breed from different regions of Mexico was evaluated, by using type I and II molecular markers.

Type I markers were assessed by the Q204X miostatin (MSTN) allele frequency determination, the allele was detected from populations using an allelic discrimination assay. In the Charolais breed, the Q204X allele causes the loss of function of MSTN protein generating the double muscling phenotype, it is directly associated with the body conformation. The three populations showed allele carriers, and differences in its frequency: AA = 0% in the three populations; AB = 9.3% ("El Jurel"), 2.81% ("La Querencia") and 8.75% (JR "La Nutria"); BB = 90.7%, 97.18% and 91.25% respectively. The difference in the Q204X allele in the three populations can be attributed to the reproductive handling and the applied criteria of selection in each one of them.

Five microsatellites showed extensive polymorphism with allele numbers ranging from 10 and 20. Overall heterozygosity at each *locus* ranging between 0.437 and 0.842, average PIC values at five *loci* were 0.811, predicting their applicability to individuals identification. On basis on  $F_{ST}$  values there are a moderated genetic differentiation between the channel catfish individuals used in the farms, but high intrapopulation allelic diversity is the most remarkable parameter. Using eleven microsatellites markers (Type II markers) it was demonstrated an extensive polymorphism from each *loci*. Heterocigocyt values from overall population (0.5) were comparable to values previously reported for European Charolais breed.

The  $F_{ST}$  analysis allowed to determine that  $= 0.07970$  exists a moderate but significant differentiation ( $F_{ST}$ ;  $P = 0.00000$ ). The genetic variation in the studied

populations is mainly attributable to the level of individual variation intra populations with a value of the 92.03%, whereas between populations it was observed 7.97% of variation. These values of differentiation are similar to those previously reported between races from different mammal's species. It results could be considered as an evidence of genetic lines between the Mexican Charolais breed due to the origin of the genetic material, reproductive handling and/or applied criterion of selection in each population.

## **1. INTRODUCCIÓN**

Desde que empezó la domesticación del ganado hace más de 9mil años, los humanos han procurado por varios medios identificar a los animales superiores con el fin de propagar y conservar sus características. Dentro de los principales animales que el hombre ha domesticado se encuentran los bovinos, porcinos, ovinos y caprinos. Las diversas áreas geográficas en las cuales se ha criado el ganado así como los múltiples usos que se le ha dado (carne, lechería, ceremonial) han originado una gran diversidad de razas [Buchanan y Dolezal, 1999], por lo tanto éstas se consideran como la base de la conservación genética del ganado [Hall y Bradley, 1995].

De los animales domesticados el ganado bovino representa el grupo más numeroso, esto se debe principalmente a dos factores: 1) ocupan una posición complementaria al humano por su eficiencia al explotar al máximo los recursos vegetales, 2) este tipo de sistema de producción animal tiene utilidad múltiple [Fries y Ruvinski, 1999]. A nivel mundial existen más de 790 razas de ganado bovino por lo tanto, éste al igual que muchas otras especies de interés pecuario, son considerados como componentes importantes de la biodiversidad. Sin embargo, según la FAO esta cifra de razas esta continuamente cambiando, y se ha estimado que al menos una raza de ganado tradicional desaparece debido a los avances en los sistemas de producción pecuaria. El uso continuo y casi exclusivo de sementales clasificados como de mejor desempeño, esta causando un efecto negativo dentro de la diversidad genética, siendo el ganado Holstein, el mejor ejemplo [San Primitivo, 2001].

En América Latina y el Caribe, la mayoría de las introducciones de ganado tuvieron lugar durante los primeros 50 años de la colonización. En 1521 durante la conquista de la Nueva España se produjo la importación de las primeras 50 cabezas de ganado bovino por Gregorio Villalobos. En México el ganado de origen español (conocido como criollo) prevaleció como raza única. Para 1896 se realizaron las primeras importaciones de ganado especializado en la producción de carne, principalmente de las razas Hereford y PardoSuizo las cuales fueron establecidas en la región norte del país [Suárez y López, consulta en línea: <http://agrinet.tamu.edu/trade/papers/hermilo.pdf>].

En 1923 se realizó la primera importación de ganado cebuino y en 1925 de Angus. Entre 1929 y 1930 se importaron los primeros ejemplares de la raza Charolais. En cierta

medida, la ganadería mexicana ha dependido de la importación de animales para mejorar la productividad de sus animales [Suárez y López, consulta en línea: <http://agrinet.tamu.edu/trade/papers/hermilo.pdf>]. Esto probablemente ha traído como consecuencia importantes cambios en el caudal genético de las diferentes razas.

En México la Raza Charolais es altamente explotada por su adaptación a todas las condiciones de manejo en sistemas de producción, tanto extensivos (campo) como intensivos (corrales) [Consulta en línea: <http://www.elevage-francais.com>]. Esta raza se caracteriza por su pelo blanco y capacidad de sudar lo que se traduce en una gran resistencia a los climas extremos (rusticidad), resistencia a las enfermedades (particularmente las de clima tropical: tripanosomiasis y las transmitidas por garrapatas como babesiosis y anaplasmosis), fácil adaptación a diferentes tipos de alimentación (asimila con provecho floras diferentes a los pastos naturales) [consulta en línea: <http://www.charolais.org.mx>], además de ser económicamente valiosa por la excelente producción de carne magra [consulta en línea: <http://www.geocities.com/WallStreet/Exchange/8492/charolais>].

El estudio de la raza Charolais es importante desde el punto de vista genético-productivo ya que la diversidad es necesaria para mantener la variabilidad de las poblaciones y así contribuir a su adaptación a diferentes ambientes. El objetivo de esta investigación fue evaluar la variación genético-molecular en poblaciones de la raza Charolais de diferentes regiones agroecológicas de México: Para ello se determinó el grado de diferenciación genética de las poblaciones estudiadas, con base en los datos genotípicos obtenidos con el uso de 11 marcadores microsátélites y el análisis del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en el gen MSTN.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Agrobiodiversidad**

La palabra “Biodiversidad” cubre un amplio espectro, tiene implicaciones al menos en tres niveles: los genes, las especies y los ecosistemas; así como dos componentes: uno tangible que incluye los recursos biológicos y otro intangible ligado a los conocimientos, las innovaciones y las prácticas humanas asociadas con la biodiversidad (por ejemplo las técnicas agrícolas o los conocimientos científicos) [consulta en línea: [Biodiversidadecuador.com/biodiversidad](http://Biodiversidadecuador.com/biodiversidad)].

Dentro del contexto agropecuario, la biodiversidad animal queda enmarcada por la variabilidad genética ó diversidad entre y dentro de razas de la misma especie y a menudo se denomina “Agrobiodiversidad” [consulta en línea: [Biodiversidadecuador.com/biodiversidad](http://Biodiversidadecuador.com/biodiversidad)].

La importancia e interés por el estudio y la conservación de la agrobiodiversidad, se puede resumir en cuatro aspectos: el primero de ellos es de orden genético-productivo, ya que la diversidad es necesaria para mantener la variabilidad de las poblaciones, la cual permite la adaptación a diferentes ambientes, algunas veces adversos; el segundo aspecto es científico, ya que, el estudio de cada raza en particular puede ser de interés para detectar posibles genes únicos y valiosos en el momento actual o en el futuro en estas poblaciones; el tercero es de orden histórico-cultural dado que la conservación de determinadas razas representan un patrimonio genético de un país y como historia viva y paralela al desarrollo de la población humana; y el cuarto es de índole ecológico-ambiental, ya que los ecosistemas son el resultado del equilibrio entre clima, flora y fauna, y cualquier factor que afectara a alguno de estos componentes estaría atentando contra ese equilibrio, deteriorando el medio y la simbiosis ecológica de la zona [Aranguren y Jordana, 2001].

### **2.2. Estudio de la diversidad genética**

La diversidad o variabilidad genética se puede definir como “la habilidad genética para variar” y por ende la capacidad de responder tanto a variaciones de índole ambiental como la presión de selección ejercida sobre las poblaciones. Es así, que la variabilidad

genética constituye la base del progreso genético, y pueden ser medidos a través de una gran diversidad de estadísticos que cuantifican la variabilidad genética y resumen la información a términos más manejables. Cada uno de ellos aprecia diferentes aspectos de la variabilidad y su utilidad práctica estará en función del propósito de estudio [Aranguren y Jordana, 2001].

El estudio de la diversidad puede realizarse a nivel genotípico y fenotípico. El genotipo contiene los códigos de información que definen al individuo, incluyendo detalles de su morfología, desarrollo, comportamiento y limitaciones biológicas. La expresión del genotipo es denominado fenotipo. Mientras que el genotipo es transmitido de una generación a la siguiente en los eventos reproductivos, el fenotipo es influenciado además del componente genético por el ambiente. A nivel poblacional, puede que no todos los individuos tengan el mismo genotipo, lo cual afecta diferencialmente a los fenotipos [Márquez, 2000]. Por lo tanto, el fenotipo no es necesariamente una buena guía de la variación genética y los miembros de una raza pueden parecer similares exteriormente pero ser absolutamente diferentes a nivel genético. Inversamente, aunque dentro de una especie las razas pueden observarse muy diferentes pueden estar genéticamente muy relacionadas [Blott *et al.*, 1996-1997].

En la actualidad el estudio de la diversidad genética se ha enfocado en la determinación de los patrones de diversidad del genoma de los individuos haciendo uso de los marcadores moleculares [López, 2004]. El incremento del conocimiento sobre la importancia de conservar la biodiversidad de las razas de ganado bovino ha sido paralelo al avance genético que ayuda al planeamiento objetivo de la conservación [Hall y Bradley, 1995]. Los métodos moleculares para describir la diversidad dentro de las especies se han empleado en una amplia gama de mamíferos y han generado información valiosa referente a estrategias de conservación [Hall y Bradley, 1995], además actualmente se está estableciendo el inventario de razas y los conceptos formulados originalmente para la cuantificación de la diversidad de la especie se están aplicando. Las razas conservadas así proporcionarán los recursos valiosos para el futuro del sector agropecuario [Hall y Bradley, 1995].

### **2.3. Aplicación de los marcadores moleculares en estudios de diversidad**

Las diferencias que se pueden apreciar entre los individuos son ocasionadas por cambios en el ADN, diferencias que se deben a alteraciones en las bases nitrogenadas en algunas regiones cromosómicas. A las diferencias o polimorfismos en el ADN se les denomina generalmente marcadores [Valadez-Moctezuma, 2004], la aplicación de técnicas para la detección de marcadores están basadas en la búsqueda de estos polimorfismos, y puesto que cada individuo tiene una secuencia única de bases, esta información puede ser explotada en estudios de diversidad [Valadez-Moctezuma, 2004].

Los marcadores moleculares a nivel de ADN, permiten la determinación de la diversidad genética existente entre y dentro de las poblaciones además de hacer posible la identificación de variantes génicas únicas. Estas poblaciones, pueden servir como reservorios para el mejoramiento genético de poblaciones comerciales, tales como resistencia a enfermedades o adaptación a situaciones ambientales extremas. Por otra parte, un registro genético de reproductores basado en marcadores de ADN, puede utilizarse por las asociaciones de criadores para garantizar la identificación de individuos, al permitir autenticar la progenie [consulta en línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/conargen>].

Se han desarrollado tres tipos de marcadores de ADN que son comúnmente usados para llevar a cabo estudios genético-moleculares, los cuales se describen a continuación.

#### **2.3.1. Marcadores tipo I**

Conocidos como marcadores moleculares directos, éstos corresponden a genes que codifican para proteínas y que tienen aplicación en la implementación de pruebas de asociación con rasgos productivos específicos [O'Brien *et al.*, 1999]. Para utilizar este tipo de marcadores moleculares es necesario saber si el gen en cuestión tiene una función fisiológica que pueda causar variación fenotípica cuando existen polimorfismos en su secuencia. Por ser de interés del presente trabajo se presenta como ejemplo de este tipo de marcadores el gen Miostatina (MSTN).

En los últimos 50 años, la estructura corporal, ha sido la base de la selección intensiva en diferentes razas. A la fecha se han descrito diferentes genes que intervienen en esta característica y uno de ellos es el gen de la miostatina (MSTN). Por lo tanto, puede ser



utilizado como marcador de selección de animales con musculatura superior. El gen MSTN es un gen específico asociado a esta característica, se localiza en el locus *mh* del cromosoma 2 bovino [Kocamis and Killefer, 2002] y actúa como regulador negativo del crecimiento muscular. La pérdida de la función de MSTN causa el fenotipo de doble musculatura que presentan varias razas de ganado bovino y en otras especies genera fenotipos similares [Heather *et al.*, 2001].

La MSTN está ampliamente conservada entre especies y su proteína es principalmente sintetizada en el músculo esquelético como un propéptido de 376 aminoácidos, produciendo una proteína activa, procesada y madura de 15 kDa. Estructuralmente, el gen está constituido por tres exones y dos intrones, contiene todas las características principales de la familia de los TGF- $\beta$ , así como una señal de procesamiento proteolítico y una región activa carboxilo-terminal que tiene patrones altamente conservados de residuos de Cisteína [Kocamis and Killefer, 2002].

La secuencia de aminoácidos del sitio activo carboxilo-terminal de procesamiento proteolítico de MSTN tiene una homología del 100% entre especies murinas, roedores, humanos, porcinos y aves [Heather *et al.*, 2001], lo cual sugiere una función común y altamente conservada.

En razas europeas como Belgian Blue y Piedmontese se demostró que algunas mutaciones en el gen MSTN provocan la pérdida de funcionalidad de la proteína, expresándose el doble músculo [Heather *et al.*, 2001].

Fisiológicamente la doble musculatura es ocasionada por distrofia muscular (DM) responsable del incremento de masa muscular. Los individuos con doble músculo, desarrollan un mayor número de fibras musculares (hiperplasia celular) ocasionada por la hipertrofia del músculo *mh* (incremento del tamaño de las fibras musculares) [Volk, 1997].

El alto polimorfismo del gen ha permitido detectar siete secuencias diferentes (alelos) para la región codificante del gen MSTN [Grobet *et al.*, 1998], 5 de ellas señalan cancelación y la casi eliminación de la función del gen, mientras que las dos restantes no tienen efecto fenotípico en los animales portadores (cuadro 1) [Heather *et al.*, 2001].

**Cuadro 1. Mutaciones en el gen Miostatina, por raza [Heather *et al.*, 2001]**

Raza	Mutación
Belgian Blue	nt821(del11)
Asturiana de los Valles	nt821(del11)
Rubia Gallega	nt821(del11)
Parthenaise	nt821(del11)
Piedmontese	C313Y
Gasconne	C313Y
Maine-Anjou	nt419(del7-ins10)
Marchigiana	E291X
Charolais	Q204X

En las razas Belgian Blue, Blonde d'Aquitaine, Limousine, Parthenaise, Asturiana de los Valles y Rubia Gallega la mutación se manifiesta como una delección de 11 pb [Grobet *et al.*, 1998] desde el nucleótido 821 hasta el 831 en el gen de la MSTN. Como consecuencia de esta mutación se produce un corrimiento en el marco de lectura y la subsiguiente terminación prematura del dominio carboxilo terminal de la proteína (nt821(del11)); en las razas Piedmontese y Gasconne la mutación se da por la transición de Guanina por Adenina (G-A) que produce un cambio en la posición 938 de un residuo de Cisteína por uno de tirosina en la misma región altamente conservada del gen (C313Y); también se han encontrado mutaciones en la raza Maine-Anjou que se manifiesta debido a una inserción/delección en la posición 419, donde 10 pb no relacionadas son insertadas en lugar de 7 pb, estas han sido deletadas dando lugar a un codon stop prematuro en el péptido N-terminal asociado al aminoácido de la posición 140 (nt419(del7-ins10)); en la raza Maine-Anjou la mutación se identifica por una transversión de G por T (G-T) en el nucleótido 676, provocando la formación de un codon stop prematuro en el péptido N-terminal asociado al aminoácido de la posición 226 (E226X); para la raza Marchigiana, se ha encontrado también una transversión de Guanina por Timina (G-T) pero en la posición 874 que provoca la formación de un stop prematuro en el dominio bioactivo C-terminal (E291X) [Grobet *et al.*, 1998]; y en la raza Charolais, dicha mutación se presenta como

una transición de Citosina por Timina (C-T) en la posición 610 originando un codon stop prematuro en el péptido N-terminal asociado al aminoácido de la posición 204 [Grobet *et al.*, 1998], donde hay un reemplazo de residuos de Glutamina (Q) por (X) aminoácido (Q204X) [Heather *et al.*, 2001].

No existen mas reportes específicos sobre la influencia del gen. En el 2003 Dunner y colaboradores trabajando con 678 muestras de animales pertenecientes a 28 razas bovinas españolas, francesas, belgas, británicas y una italiana detectaron siete nuevas mutaciones en el gen de la MSTN (2 polimorfismos intrónicos, 3 mutaciones silenciosas, y 2 mutaciones conservadas en los exones I y II). Hay una considerable heterogeneidad genética en la causa de la doble musculatura y muchas mutaciones se detectan en más de una raza [Giovambattista *et al.*, 2002].

La presencia de mutaciones en el gen MSTN desde el punto de vista productivo presentan ventajas, ya que los animales con DM tienen más carne magra que un animal normal, mayor masa muscular con menos grasa, y generan incrementos de peso en condiciones de alimentación poco favorables, especialmente en lo que a calidad de forrajes disponibles se refiere, además, presenta una elevada conversión alimenticia [consulta en línea, [www.elevage-francais.com](http://www.elevage-francais.com)], sin embargo, fisiológicamente es un patología, ya que se le asocia con la disminución de grasa de otros órganos, reducción de la fertilidad en las hembras, riesgo de enfermedad respiratoria y cardiovascular, y además requiere la practica de cesáreas debido a la alta incidencia de distocia, lo cual ha propiciado la selección negativa o positiva de dicho fenotipo para usos específicos en algunas razas y bajo estrategias de manejo [Heather *et al.*, 2001].

### **2.3.2. Marcadores tipo II**

En la actualidad, muchos de los estudios de diversidad genética de razas, mapeo de genes y búsqueda de genes de interés productivo se realizan mediante el uso de los marcadores moleculares tipo II o microsatélites [O'Brien *et al.*, 1999]. Estos STRs, son repeticiones cortas en tandem, constituidas por repeticiones de 1 a 6 pares de bases y que se distribuyen por lo general en regiones intergénicas (figura 1). Una de las ventajas de estos marcadores radica en que están considerados por la mayoría de los autores como la más

poderosa herramienta para los estudios de genética de poblaciones, ya que son muy polimórficos presentan herencia mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), son fáciles de medir y analizar, y son 100% fiables, repetitivos y automatizables [Aranguren y Jordana, 2001]. Como sistemas genéticos, son comparativamente fáciles de automatizar con la posibilidad de amplificación múltiple de hasta cinco *loci* en una sola reacción de PCR y de cargas múltiples de hasta quince *loci* por carril en algunos sistemas de gel altamente optimizados. Además, se asume que son neutrales a la selección, la diversidad genética observada es la consecuencia de dos fuerzas: deriva y mutación genéticas [Cañón *et al.*, 2001].

Mononucleótido (A) <sub>13</sub>	AAAAAAAAAAAAA
Dinucleótido (GT) <sub>8</sub>	GTGTGTGTGTGTGT
Trinucleótido (GAT) <sub>7</sub>	GATGATGATGATGATGAT
Tetranucleótido (CTAG) <sub>6</sub>	CTAGCTAGCTAGCTAGCTAG
Pentanucleótido (CATTG) <sub>5</sub>	CATTGCATTGCATTGCATTG
Hexanucleótido (GGATCC) <sub>4</sub>	GGATCCGGATCCGGATCCGGATCC
Microsatélite imperfecto	GTGTGTGTGTATGTGTGTGTG
Microsatélite interrumpido	GTGTGTGTCCCGTGTGTGTG
Microsatélite compuesto	GTGTGTGTGCTCTCTCTCTCTC

**Figura 1. Clasificación de los microsatélites.** La figura muestra las clasificaciones de los microsatélites con base al número de repeticiones, y las características estructurales del motivo (Schlötterer y Harr, 2001).

Por sus características, los microsatélites se han convertido en los marcadores de elección para llevar a cabo estudios tanto de genética básica como de mejora animal.

Durante la última década en todo el mundo, se realizó una gran cantidad de estudios de diversidad genética en ganado doméstico, todos ellos basándose en el uso de marcadores microsatélites. Un examen entre grupos de investigación revela que en la mitad de 87 proyectos están investigadas más de 9 razas elegidas principalmente debido a su larga historia de aislamiento, ya que contienen cualidades fenotípicas únicas o bien porque han presentado una evolución dentro de un ambiente único; en la mitad de los proyectos el tamaño promedio de muestra por raza ha sido mayor de 50 individuos; en la mayoría de los proyectos el tipo de muestra preferido ha sido sangre [Baumung *et al.*, 2004].

### 2.3.2.1. Nomenclatura para marcadores Microsatélites de ADN

La nomenclatura para los marcadores de ADN es bastante directa. Si un marcador es parte de un gen o está dentro de un gene, el nombre del gen se usa en la designación. Por ejemplo, las pequeñas repeticiones en tandem (STR) del marcador TH01 son del gen humano Tirosina Hidroxilasa situado en el cromosoma 11. La porción 01 indica que la región repetida se localiza dentro del intron 1 del gen Tirosina Hidroxilasa. Algunas veces el prefijo HUM es incluido al principio del nombre del *locus* para indicar que pertenece al genoma Humano. Así, el *locus* del microsatélite correctamente nombrado es HUMTH01. Los marcadores de ADN que caen fuera de las regiones del gen, pueden ser designados por su posición en el cromosoma. Los microsatélites D5S818 y DYS19 son ejemplos de marcadores que no se encuentran dentro de las regiones del gen. En este caso, “D” representa al ADN (en sus siglas en inglés DNA). El siguiente carácter se refiere al número de cromosoma, 5 por el cromosoma 5 y “Y” por el cromosoma Y. La “S” se refiere al hecho de que el marcador del ADN es una secuencia de una sola copia. El número final indica el orden con el cual el marcador fue descubierto y categorizado para un cromosoma en particular. Los números secuenciales se utilizan para dar unidad a cada marcador de ADN identificado [Butler, 2001]. Así, para el marcador de ADN [D16S539](#):

**D:** ADN (en sus siglas en inglés DNA)  
**16:** cromosoma 16  
**S:** secuencia de una sola copia  
**539** *locus* 539 descrito en el cromosoma 16

### 2.3.3. Marcadores tipo III

Estos marcadores moleculares, son polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs) y comúnmente bi-alélicos, se encuentran en los exones e intrones de genes e incluso en las regiones intergénicas [O’Brien *et al.*, 1999]. Este tipo de marcadores moleculares han tenido un gran auge en los últimos años, principalmente al revelar el proyecto del genoma humano, que pueden ser utilizados como marcadores para identificar genes que predisponen a enfermedades multifactoriales.

Aunque la identificación de este tipo de marcadores en el área animal apenas empieza, se consideran de relevancia, ya que podrían ayudar a definir las vías metabólicas o cascadas de genes que participan en la expresión de diferentes características fenotípicas de interés productivo.

## 2.4. Medidas de la diversidad genética

A partir de la información de los marcadores moleculares se puede calcular una gran cantidad de parámetros de la diversidad genética, la mayoría de estos datos se pueden aplicar en los diversos niveles de organización como son especie, subespecie, población e individuo. Las medidas de "locus único", resumen la información de varios *loci* simplemente haciendo un promedio sobre todos los *loci* y las medidas del "multilocus", están basadas en genotipos del multilocus y consideran correlaciones entre alelos en diversos *loci* [Glaubitz *et al.*, 1999].

### 2.4.1. Diversidad dentro de poblaciones

Hay dos conceptos distintos de la variación genética que son aplicables a nivel de la población. Uno es la riqueza de cualquier población o muestra de ella, éste corresponde al número total de los genotipos o de los alelos presentes en la población. El otro concepto es la uniformidad, el grado de igualdad en la frecuencia de diversos tipos o alelos en la población o la muestra estudiada. El concepto de la riqueza es considerado por dos medidas: el número total alelos y el porcentaje de loci polimórficos. El número total de los alelos (también conocidos como la riqueza alélica) no toma en cuenta las frecuencias en las cuales varios alelos aparecen siendo sensibles a la presencia o a la ausencia de alelos raros en una población o muestra. Sin embargo, hay un alto grado del error de muestreo asociado a la detección de dichos alelos raros, por esta razón, además del número total, es útil observar el número de alelos en la muestra sobre un umbral de la frecuencia (por ejemplo el 5% o menos en frecuencia) [Glaubitz *et al.*, 1999].

El porcentaje de *loci* polimórficos en una población es una evaluación cruda de la variación genética para los estudios evolutivos pues está sujeto a un error de muestreo genómico grande es decir, es solamente confiable cuando se muestrean una gran cantidad de loci. Sin embargo, esta medida se ha utilizado extensivamente para comparar diversidad genética entre los taxa, la especie, y las poblaciones. La uniformidad del alelo o de las frecuencias del genotipo es considerada por las medidas de heterocigocidad observada ( $H_O$ ), heterocigocidad esperada ( $H_E$ ) y el número efectivo de los alelos ( $A_E$ ).

La  $H_O$  es la frecuencia en la cual los individuos heterocigotos están presentes en una población en un *loci* dado. Se hace un promedio de las estimaciones de *loci* únicos para una estimación total a través de *loci*. La  $H_E$  es la medida de diversidad genética más ampliamente utilizada, principalmente porque su interpretación genética es absolutamente clara y aplicable a casi todos los organismos. Además, las características del muestreo se han estudiado bien, y puede ser estimado confiablemente a partir de muestras relativamente pequeñas. El número efectivo de los alelos ( $A_E$ ) se define como el recíproco del homocigoto, ( $\text{homocigosidad} = 1 - H_E$ ).  $A_E$  es solamente igual al número real de alelos en un *locus* cuando los alelos son todos equivalentes en frecuencia en la población, y esta, de una magnitud más baja en el resto de las situaciones [Glaubitz *et al.*, 1999].

#### 2.4.2. Diferenciación de poblaciones

La medida más utilizada del grado de diferenciación genética entre las poblaciones fue desarrollada por Wright (1943, 1951) y es referido por el símbolo  $F_{ST}$  que mide la proporción de la diversidad genética total en una especie debida a la diferenciación entre las poblaciones. La magnitud de  $F_{ST}$  refleja el grado con el cual las frecuencias alélicas varían de población a población. La  $G_{ST}$  de Nei es equivalente a  $F_{ST}$ . El grado de diferenciación entre las poblaciones esta fuertemente influenciado por la tasa de migración ( $m$ ), y número de migraciones por población por generación ( $Nem$ , donde  $N_e$  es el "tamaño efectivo de la población", se describe como flujo génico).

El nivel del flujo génico se puede estimar indirectamente en función de  $F_{ST}$  o utilizando una aproximación basada en el número promedio de alelos privados (es decir, los presentes solamente en una población).

La divergencia genética entre dos poblaciones se puede cuantificar utilizando distancias genéticas, y dependiendo del análisis se pueden clasificar en distancias geométricas y distancias genéticas:

1) Las distancias geométricas se aplican para la clasificación de la población, pues utilizan frecuencias alélicas sin aplicar ningún concepto genético subyacente.

2) Las distancias genéticas asumen hipótesis particulares referentes a la divergencia entre las poblaciones y son entonces apropiadas para interpretar su evolución [Glaubitz *et al.*, 1999].

## **2.5. Diversidad del ganado bovino**

Una raza es un grupo de animales seleccionados por el hombre, para tener una apariencia que las distingue de otros miembros de la misma especie, y se considera que son la base de la conservación genética del ganado. Además, son reconocidas como importantes componentes de la biodiversidad del mundo porque los genes y la combinación de estos, pueden ser útiles al sector agropecuario en el futuro [Hall y Bradley, 1995].

Hace más de 9 mil años, varios de los principales animales de granja a saber, bovinos, ovinos, porcinos y caprinos, fueron domesticados [Andersson, 2001]. Dentro de este proceso histórico, se distinguen dos periodos, uno en el que se diferencian poblaciones subespecíficas por motivos naturales y artificiales (esto es la aplicación del concepto de raza) y otro en el que se establecen los procedimientos administrativos, oficiales y técnicos para el reconocimiento de cada raza. [Rodero y Herrera, 2000].

De los animales domesticados el ganado bovino representa el grupo más numeroso con 790 razas, esto se debe principalmente a que ocupan una posición complementaria al humano por su eficiencia al explotar al máximo los recursos vegetales, y porque este tipo de sistema de producción animal tiene utilidad múltiple [Fries y Ruvinski, 1999]. El ganado bovino domesticado es miembro de la tribu *Bovini* perteneciente a la familia *Bovidae*, los estudios moleculares han mostrado que hay dos formas reconocidas de ganado domesticado, el ganado taurino de Europa, del oeste Africano y norte de Asia, (*Bos taurus*) y el ganado cebú de Asia y de África meridional (*Bos indicus*) [MacHugh, 1996].

### **2.5.1. Estudios de diversidad genética en bovinos**

En los años 90 empezaron a aparecer los primeros reportes de estudios moleculares basados en la variación genética del DNA en ganado, el análisis del *mtDNA*, probó ser extremadamente eficaz en la elucidación de la diversidad genética en una amplia gama de



organismos, y se ha aplicado a las poblaciones de ganado de todo el mundo, indicando que las distintas razas tienen un antepasado común, el Aurochs (*Bos primigenius*) que fue domesticado y se dividió en dos razas locales [Hall y Bradley, 1995]. Loftus y sus colegas analizaron la variación de la secuencia del *mtADN*, misma que les proporcionó una estimación exacta del tiempo de divergencia entre el ganado taurino y el cebuino en el período holoceno lo que indicó que el ganado cebú fue domesticado probablemente independientemente [MacHugh, 1996]. En un análisis posterior, Bradley y colaboradores (1996) partiendo de una base de datos de las secuencias del *mtADN* mucho más grande sugirieron que el ganado Taurino Africano y Europeo también pudieron haber sido domesticados independientemente en localidades separadas.

El estudio de las razas autóctonas y la descripción de características únicas en el lenguaje de la genética molecular son una guía para la toma de decisiones en el futuro de la biodiversidad de ganado. La FAO ha desarrollado e integrado programas para el manejo global de los recursos genéticos [Hall y Bradley, 1995]. Se recomienda que todos los grupos de investigación utilicen el mismo panel de marcadores microsatélites para facilitar el análisis comparativo o la construcción de árboles filogenéticos [Baumung *et al.*, 2004] que incluyen tanto información topológica, que resume patrones de la relación entre parientes, como la longitud de la rama, que exhibe el grado de divergencia entre los parámetros [Hall y Bradley, 1995].

En 1998, MacHugh y colaboradores determinaron la variación genética utilizando 20 microsatélites de 728 animales que representaban a 20 poblaciones de Europa, de África y de la India. Estas poblaciones incluyeron siete razas de ganado Europeo *Bos taurus*, cinco poblaciones de ganado *Bos taurus* del oeste Africano N'Dama, cinco razas de *Bos indicus* del Este y Oeste africanos y tres razas de *Bos indicus* Hindúes. Con los datos obtenidos, realizó una amplia gama de análisis genéticos. Se observó un alto nivel de variación genética registrándose en total 168 alelos de longitud variable, la heterocigocidad promedio sobre todos los *loci* en la muestra total fue  $0.551 \pm 0.004$ . Entre los grupos continentales, las cuatro razas taurinas provenientes de las Islas Británicas exhibieron menos variación genética, contrariamente en términos de heterocigocidad y diversidad alélica, las cinco razas del cebú Africano exhibieron la más alta variación genética. Diez de los 20 microsatélites exhibieron variantes de longitud discretas que fueron observadas en alta

frecuencia en razas de cebú Hindúes y en frecuencias intermedias en razas de cebú Africano, estos alelos estaban ausentes o presentes en poblaciones Africanas y Europeas en razas taurinas en baja frecuencia.

El análisis filogenético indicó la divergencia genética del *Bos taurus* y el *Bos indicus* por lo menos desde hace 600.000 años. Esto concuerda con anteriores análisis de variación de la secuencia mitocondrial en ganado y proporciona una fuerte evidencia que los dos tipos de ganado fueron domesticados independientemente por dos culturas neolíticas separadas [MacHugh *et al.*, 1998].

En 1998 para determinar la estructura genética de siete pedigríes de razas de ganado Europeo, MacHugh y colaboradores utilizaron 20 marcadores microsatélites en la valoración genotípica de 253 animales. La valoración de la subdivisión genética que usa medidas clásicas basadas en la deriva demostró que la proporción media de variación genética entre las razas varía entre 10 y el 11% del total, dependiendo del estimador usado. Ellos demostraron que un parámetro genético simple de la distancia alélica se puede utilizar para construir un dendograma de relaciones entre animales. Este árbol filogenético exhibe un grado notable de parentesco de la raza que agrupa y refleja una estructura subyacente extensa, principalmente de la raza Simmental y cuatro razas originadas en las Islas Británicas [MacHugh *et al.*, 1998].

### **2.5.2. Impacto de la selección artificial sobre la diversidad genética de bovinos**

De las 790 razas de ganado bovino existentes en el mundo, cerca de 270 se localizan en Europa. El aislamiento genético y la separación geográfica practicados desde hace más de 100-200 años, han provocado la divergencia de poblaciones. Las razas de ganado local han sido desplazadas casi totalmente por las razas de ganado comercial altamente productivas por lo que la diversidad genética del ganado bovino está disminuyendo.

Aunque el número de éstas es relativamente pequeño, las innovaciones técnicas en transporte, comunicaciones y sistemas de reproducción (incubadoras, inseminación artificial, transplante de embriones) facilitan su uso a nivel mundial y su representación en la población ganadera se está incrementando [San Primitivo, 2001]. Un ejemplo es el

ganado Holstein, que se ha convertido en la raza lechera predominante en todo el mundo, y se utiliza para el mejoramiento de la producción de leche.

## **2.6. Razas que se explotan en México**

México posee una gran diversidad de recursos genéticos pecuarios (RGP), comprendiendo un total de 45 razas de bovino, de las cuales 26 son Europeas, siete son cebuínas y 12 son sintéticas, producto de cruzamientos entre razas Europeas y cebuínas.

Un 69% de las razas se consideran localmente adaptadas, siendo el resto introducidas recientemente y con tamaño de población reducido. Un 22% de las razas son las más usadas, un 13% se consideran usadas moderadamente, y el 65% restante tienen poblaciones muy reducidas, aunque no necesariamente en riesgo, debido a que la gran mayoría son recursos genéticos exóticos [Consulta en línea: [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx), [www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf)].

Ocho razas están expandiéndose, 26 se mantienen constantes y 11 tienen una tendencia decreciente. Entre las causas por las que algunas razas lecheras (Jersey, Suizo Americano) están aumentando en número, se tienen la rusticidad e importancia económica de sólidos totales en la leche. Para el caso de algunas razas para carne como Simmental, Suizo Europeo, Brahman, Nelore, Sardo Negro y Simbrah; las causas son el tamaño corporal, rusticidad, habilidad materna, adaptación a condiciones tropicales y promoción de la raza, principalmente. Algunas de las razas, principalmente las nativas, están decreciendo debido a la falta de difusión de sus características, y otras a las limitaciones en su comportamiento productivo y reproductivo [Consulta en línea: [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx), [www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf)].

Se estima que un 36% de las razas ha participado en pruebas de comportamiento y sólo cuatro (Holstein, Simmental, Tropicarne y Angus) están realizando evaluaciones genéticas con la metodología del Mejor Predictor Lineal Insesgado (BLUP, por sus siglas en inglés). Un 53% de las razas utiliza de manera sistemática la inseminación artificial, generalmente usando semen de toros con evaluaciones genéticas; asimismo, se estima que un 18% utiliza, aunque de manera limitada, la transferencia de embriones. Con base en lo anterior, un 40% de las razas practican alguna forma de mejoramiento. Finalmente, muy

pocas razas tienen objetivos de selección definidos apropiadamente, así como programas de mejoramiento definidos e implementados. Cabe señalar que a nivel de rebaños aislados se comienzan a realizar evaluaciones genéticas [Consulta en línea: [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx), [www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf)].

Se calcula que un 60% de las razas se utilizan ampliamente en cruzamientos, destacando las cebuínas, suizas y criollas, y en menor grado la Holstein, Simmental, Charolais y Angus. En la ganadería de doble propósito (GDP) se utilizan animales de genotipos indefinidos, producto de esquemas desordenados de apareamientos entre razas europeas, cebuínas y criollas. A partir de estos sistemas se obtiene leche para el consumo humano y becerros destetados que se destinan a la producción de carne. Desde el punto de vista genético, la falta de esquemas de apareamiento y selección producen animales con genotipos definidos, y de ahí la escasa productividad individual y de hato. Existen algunos programas ordenados de selección y cruzamiento, cuyo objetivo es producir animales de cruza definidas y las evaluaciones genéticas de los sementales cruzados, incluyendo principalmente las razas Holstein, Suizo y Simmental con Cebú [Consulta en línea: [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx), [www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf)].

Con respecto al grado de conocimiento de estos recursos, casi la mitad (19 razas) cuentan con estudios básicos describiendo las características de la raza, una cuarta parte se ha considerado en estudios sobre la evaluación de razas puras y cruza, 31 razas cuentan con control de registro genealógico, y la mitad tiene bases de datos con programas de control de producción (cuadro 2) [Consulta en línea: [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx), [www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf)]. El cuadro 2 contiene una descripción de acuerdo al grado de adaptación, uso, tendencia en el tamaño de la población, grado de conocimiento y de utilización por raza para el ganado Europeo de importancia para la alimentación y la agricultura.

En México no existen reportes describiendo la diversidad genética de bovinos, Salazar *et al.*, evaluaron un panel de 9 marcadores microsatélites para la identificación de individuos en las razas Charolais y Beefmaster, sin embargo, solo se enfocaron en el estudio de dos hatos en cada raza para evaluar su aplicación en análisis de paternidad. [Salazar *et al.*, 2004].

Cuadro 2. Información relacionada con la utilización de los Recursos Genéticos Bovinos

[consulta en línea: [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx); [www.sagarpa.gob.mx/DGz/FP/infotfoa.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/DGz/FP/infotfoa.pdf)].

Razas	Grado de uso							Grado de caracterización							Grado de utilización								
	L/E	MU	U	PU	R	P	T	EB	DG	ERC	RG	FP	PC	Bhp	EM	S	C	IA	TE	OM	PMD	PMI	
<b>Europeas</b>																							
Angus	L		X				A	X		X	X	X	X			+	++	+					
Belmont Red	E			X			E																
Charolais	L	X					E	X	X	X	X	X				+	++	++	+				
Chianina	L		X				A			X						+		+					
Criollo Mexicano	L	X					D	X	X								+++						
Cuernos Largos	L		X				D																
Gelbvieh	E		X				E			X							+	+					
Hersford	L		X				D	X		X	X	X				+	++	+	+				
Holstem	L	X					E	X	X	X	X			X		+++	+	+++	++	+			+
Jersey	L		X				A	X	X	X	X					++	+	++	+				
Lechero Tropical	L			X			D	X	X	X													
Lidia	L	X					E	X								+							+
Limousin	L	X					E			X	X	X				+	++	++					
Marchigiana	E			X			E																
Machona	E			X			E																
Piedmontese	E			X			E			X													
Red-Folled	E			X			E																
Romagnola	E			X			E			X													
Romosinuato	E			X			E			X													
Salers	L			X			E	X			X	X	X			+	++	++					
Simmental	L	X					A	X	X	X	X	X		X		++	++	++	+	+			+
Suizo Americano	L	X					A	X	X	X	X	X				++	++	++	++	+			+
Suizo Europeo	L	X					A	X	X	X	X	X				+	+++	+++	++	+			+
Tuli	E			X			E																

**Adaptación:** L = localmente adaptadas; E = exóticas; **Grado de uso:** MU = muy usadas, U = moderadamente usadas, PU = poco usadas, R = en riesgo, P = perdidas en los últimos 50 años; **Tendencia en tamaño de la población:** T (D = descendente, E = estable, A = ascendente); **Grado de caracterización:** EB = estudios básicos descriptivos, DG = distancias genéticas, ERC = evaluación de razas y cruces, RG = base de datos de registros genealógicos, FP = bases de datos de registros productivos, PC = participación en pruebas de comportamiento, Bhp = evaluación genética con modelos mixtos o modelo animal, EM = evaluación molecular, S = selección de reproductores, C = cruzamiento, IA = inserción artificial, TE = transferencia de embriones, OM = defunción de objetivos de mejoramiento, PMD = programas de mejora genética diseñado, PMI = programas de mejora genética implementados.

### 2.6.1. La Raza Charolais

Teniendo como origen la región de Saône-Loire en Borgoña, la raza Charolais se ha distribuido rápidamente fuera de su cuna hacia todas las regiones de Francia [consulta en línea, <http://www.france-charolais.com>]. Esta raza es una variedad de la raza jurásica (*jurassique*), la Charolais es el ramo sur-oeste de una población muy importante de la cual se encuentran rastros en los yacimientos prehistóricos; principalmente en Suiza. La utilización de la raza Charolais como raza mixta carne/trabajo ha permitido orientar la selección hacia un tipo de animal musculoso sin la tendencia a acumular excesiva grasa. Es a partir de 1920 que la Charolais se transforma exclusivamente en un animal de carnicería. [Consulta en línea: <http://www.france-charolais.com>].

Embajadora de la genética bovina francesa desde hace medio siglo, la raza Charolais está presente en 70 países que presentan diferentes climas y las latitudes. Se utiliza para mejorar la calidad de las razas cárnicas criollas y además ha servido para la creación de nuevas razas mestizas con el cebú: la Charbray (USA y Australia) y la Canchim (Brasil) [Consulta en línea: <http://www.france-charolais.com>].

#### 2.6.1.1. La raza Charolais en México

Investigaciones preliminares hechas por la Unión de Criadores de Ganado Charolais de Francia, determinaron que México presentaba condiciones muy favorables y decidieron establecer Charolais en este país, con el propósito de suministrar “raza *full french*” con un inventario para su reproducción y subsiguiente distribución en varios países de Latino América, los Estados Unidos y Canadá. Jean Pugibet fue nombrado representante para los países de Latino América y Henri de Nancy representante para Estados Unidos y Canadá. Jean Pugibet, nacido en México, se enlistó en el ejército Francés durante la primera guerra mundial, fue asignado a la caballería bajo el mando del General Marques de L’Guiche (quien fundó la Unión de exportadores de ganado Charolais de Francia), tiempo después Pugibet se encargó de la importación de la raza a México.

La Unión de Criadores de ganado Charolais de Francia efectuó tres embarques de *full french* a México, en los años 1930, 1931 y 1937. Todos los animales fueron seleccionados por el Gral. L’Guiche y fueron consignados a Pugibet. Los tres embarques

concluyeron en un total de 37 animales, -ocho toros y 29 hembras- [Singleton, 1964; Com. Pers. Gilberto Romero Cloud<sup>1</sup>].

A partir de la llegada del ganado Charolais a México, este se utilizó en cruzamientos de pureza y cruzamientos por absorción con otras razas, logrando que un número de criadores Mexicanos tuvieran acceso a animales de esta raza y sus cruzas, por medio de la Asociación de Criadores de Ganado Charolais Mexicano para registrar los diferentes grados de porcentaje de la raza Charolais al paralelo de la Asociación Charolais Herd Book Internacional, A. C., la cual mantenía el registro de los animales de pureza.

A finales de los años 60 se realizaron importaciones de ganado Charolais a través de estaciones cuarentenarias a Estado Unidos y Canadá, importándose de esos países semen y ganado puro a México, posteriormente el Sr. Juan Romero Huxley y Don Justo A. Odrizola, realizaron importaciones de machos y hembras directamente de Francia a México (figura 2).



**Figura 2. Ejemplar de la raza Charolais.** [Tomada de catálogo electrónico del Rancho [Rancho Ganadero La Nutria](#) ].

A través de los tres congresos mundiales de la raza Charolais que se han realizado en el país en los años 1968, 1977 y 1990, se ha logrado promover estos animales y dar a conocer a nivel mundial la calidad de ganado que México tiene y los beneficios que esta raza ha dado a la industria cárnica de México.

---

<sup>1</sup> Memorias de Juan Romero Huxley y Gilberto Romero Cloud. Propietarios del Rancho JR“La Nutria”. San Juan, Cadereyta Jiménez, NL. Noviembre de 2004.

A partir de los años 30 en que el ganado llegó a México y hasta finales de los años 60 se fueron seleccionando los animales de la raza Charolais llegándose a formar una gran diferencia genética entre estos animales y los que a finales de los 60 se importaron, logrando incrementar de 35 a 39 kg el peso al nacimiento y de 230 a 253.5 kg el peso al destete en los animales de México con media sangre de la genética llegada de Francia. En la actualidad el peso al nacer de los animales de sangre francesa es de 48 kg y al destete de 272 kg, obviamente este último varía de acuerdo a las condiciones alimenticias de la vaca.

El peso de los toros de la raza Charolais llega a ser de 1,300 kg y de las hembras hasta de 900 kg variando esto según la región en que se desarrollen y el tipo de manejo de los ranchos (figura 3). La adaptabilidad de la raza ha sido sorprendente, pues en la actualidad se encuentra como raza pura en casi todos los estados de la república y en cruzamientos como una de las razas de mayor aceptación por su precocidad, rusticidad, alta tasa de fecundidad, eficiencia alimentaria, rentabilidad en canal, docilidad y manejo [Com. Pers. Cesar Cantú]<sup>2</sup>.

En época reciente y por ser casi los mismos socios de las organizaciones Charolais Herd Book Internacional y la Asociación de Criadores de Ganado Charolais Mexicano, se fusionaron con el nombre de Charolais Herd Book de México, la cual cuenta con 143 socios activos en 14 estados de la República y con 16,320 machos y 26,625 hembras puras registradas. De ganado de grado se cuenta con 2,201 machos y 25,904 hembras [Com. Pers. Cesar Cantú]<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> Cesar Cantú. Agropek. Expresidente Nacional de la Charolais Herd Book de México. Marzo de 2005.





**Figura 3. Ejemplar de la raza Charolais.** [Tomada de: Rancho “El Salitre” [http://www.integradoracharolais.com.mx/sal\\_historia.htm](http://www.integradoracharolais.com.mx/sal_historia.htm)].

En México, actualmente la raza de bovinos Charolais, se localiza en el Norte y Noreste principalmente en los estados de Chihuahua, Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas, aunque hay numerosos criadores en el altiplano [Consulta en línea: [Razas de Ganado Charolais](#)]. La figura 4 muestra las zonas ganaderas de México dividida en las regiones árida y semiárida, templada, tropical seca y tropical húmeda.

#### ZONAS GANADERAS DE MÉXICO



**Figura 4. Localización de la raza Charolais en México.**  
[Suárez y López, [LA GANADERIA BOVINA PRODUCTORA DE CARNE EN MEXICO. SITUACION ...](#)]

### 2.6.1.2. Normas de excelencia de la raza

A continuación se listan las características de mayor relevancia en la raza Charolais, mismas que forman parte de las normas seguidas para el registro de los animales pertenecientes a la raza.

#### I.- Apariencia General y Tipo

A) Forma: Sólida y pesada, cuerpo grueso, ancho y largo, con costillas marcadamente amplias y separadas, espinazo o vientre rectilíneos, ijares amplios, aspecto general recio, denotando un animal de gran rusticidad y económica producción de carne.

B) Talapo: Bien desarrollado para la edad, condición y sexo.

C) Color: Blanco, crema balido o ligeramente pajizo, se aceptan algunas manchas de color crema pálido o pajizo sobre blanco, o viceversa, pero no es esta una característica deseable, (manchas de cualquier otro color son motivo de descalificación), pezuñas y cuernos amarillentos, cola blanca, crema o pajiza, pigmentación de la piel, rosa., (cualquier pigmentación negra es motivo de descalificación).

#### II.- Cuerpos Traseros

A) Ática: Larga, ancha y sumamente musculosa; ancho superior en proporción con el lomo, los Ijares y costillares, pero puede ser ligeramente curvo.

B) Músculos y Horcajaduras: Gruesos, anchos y musculosos, el ancho de los muslos debe ser igual al ancho del costillar, la horcajadura con carne hasta las corvas igual al punto más grueso del cuerpo.

C) Piernas: Largo moldeado, en comparación con el tamaño y peso del cuerpo; solidamente plantadas perpendiculares en vista posterior, pero ligeramente inclinadas hacia delante debajo de las corvas, corvas grandes y bien proporcionadas, cañas de largo moderado, de las corvas al suelo. Patas grandes y sanas en cuartillas fuertes.

D) Cola: Pesada y gruesa; partiendo del anca en forma lisa y uniforme, al ras con la línea superior y sin deformidades.

E) Ubre: De amplia capacidad, redonda sin carnosidad excesiva, tetas de tamaño moderado, bien colocadas, bien separadas.

F) Escroto: Bien desarrollado, conteniendo dos testículos relativamente iguales en tamaño. Es sumamente objetable el que solo un testículo pueda apreciarse.

#### III.- Cuerpo

A) Pecho: Ancho y profundo; bien lleno detrás de las paletas (gran circunferencia de cuerpo alrededor del corazón), ijares delanteros profundos y bien llenos.

B) Costillas: Bien separadas y curvadas, con abundante largo para dar grosor al cuerpo, su línea se funde armoniosamente con las de los lomos e ijares. Cualquier depresión apreciable detrás de las paletas es objetable.

C) Espinazo: Ancho, recto, muy musculoso, caderas de ancho moderado pero no prominentes (las caderas prominentes son puntos objetables, especialmente en los machos).

D) Lomo: Ancho, grueso, parejo, largo y uniformemente carnosos, extendiéndose hacia atrás sobre las caderas.

#### **IV.- Cuartos Delanteros**

A) Paletas: Amplias y bien musculosas; anchas y ligeramente curvas en su parte superior. Vena del hombro lisa y llena. Recia musculatura en los toros, menos pronunciada en las hembras.

B) Pecho: Limpio, amplio, ancho, con ligera papada.

C) Brazos: Largo moderado, en comparación con el tamaño y peso del cuerpo, fuertes, bien colocados, antebrazo musculoso, coyunturas fuertes y bien formadas. Largo moderado de cañas de las rodillas al suelo, patas grandes y sanas, en cuartillas fuertes.

#### **V.- Cabeza y Cuello**

A) Cabeza: Frente y hocico anchos, cara corta y apreciablemente cóncava. Ojos grandes claros y de mirada apacible. Fosas nasales grandes, quijada bien desarrollada y fuerte, orejas de tamaño mediano, bien colocadas y refinadas, cuernos, si los hay, limpios, simétricos y cónicos; color amarillento; tamaño mediano, saliendo de la cabeza en ángulo recto. Son aceptables los animales sin cuernos por naturaleza o descornados. La cabeza de los toros debe mostrar agresividad, fuerza y masculinidad, mientras que la de las vacas debe ser refinada y femenina.

B) Cuello: Grueso, corto y armoniosamente integrado con la cabeza y las paletas. Musculoso, con cresta bien desarrollada en los toros, según su edad, papada de tamaño mediano.

C) Garganta: Amplia, con ligero desarrollo de piel floja por debajo.

#### **VI.- Calidad y Corpulencia**

A) Piel de espesor moderado, blanda y suave, pelo tupido y sedoso. Osamenta pesada pero limpia. Unión armoniosa de todas las partes del cuerpo, con gran corpulencia y buena presentación [Com. Pers. Cesar Cantú]<sup>3</sup>.

---

<sup>3</sup> Cesar Cantú. Agropek. Expresidente Nacional de la Charolais Herd Book de México. Marzo de 2005.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Existen diferentes aspectos que son útiles para la caracterización de una población, incluyendo los fenotípicos, genotípicos (caracteres monogénicos y poligénicos), reproducción, distribución geográfica, origen y hábitat.

La caracterización genética de las poblaciones permite acceder a su variabilidad genética, la cual es un elemento crucial en determinar estrategias de crianza y programas de conservación. La evaluación de la diversidad genética es especialmente importante en las razas de ganado altamente especializadas, debido a que el uso de técnicas de reproducción asistida como la IA y TE, utilizadas para mejorar y mantener las características productivas de un hato pueden rápidamente conducir a una pérdida de la diversidad genética en una población.

En la actualidad, el estudio de la diversidad genética se ha enfocado en la determinación de los patrones de diversidad del genoma de los individuos haciendo uso de los marcadores moleculares [López, 2004]. Los marcadores moleculares a nivel de ADN, permiten la determinación de la diversidad genética existente entre y dentro de las poblaciones e identificar aquellos genes únicos. Estas poblaciones, pueden ser reservorios de variantes genéticas, potencialmente importantes para el mejoramiento genético de poblaciones comerciales, tales como resistencia a enfermedades o adaptación a situaciones ambientales extremas. Por otra parte, un registro genético de reproductores basado en marcadores de ADN, puede utilizarse por las asociaciones de criadores para garantizar la identificación de individuos, al permitir autenticar la progenie [consulta en línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/conargen>].

El estudio de la raza Charolais es importante; desde el punto de vista genético-productivo, porque la diversidad es necesaria para mantener la variabilidad de las poblaciones y así contribuir a su adaptación a diferentes ambientes; desde el punto de vista científico es importante el estudio de cada raza en particular ya que puede ser la base para detectar posibles genes únicos; en el orden histórico-cultural, porque la conservación de determinadas razas representan un patrimonio genético de un país, son la historia viva y paralela al desarrollo de la población humana. Y finalmente, tiene una repercusión ecológico-ambiental, porque los ecosistemas son el resultado del equilibrio entre clima, flora y fauna; cualquier factor que afectara a alguno de estos componentes estaría atentando

contra ese equilibrio, deteriorando el medio y la simbiosis ecológica de la zona [Aranguren y Jordana, 2001].

El hecho de evaluar la variación genético-molecular en poblaciones de la raza Charolais de diferentes regiones agroecológicas de México, permitirá determinar el grado de diversidad genética de las poblaciones estudiadas, con base a los datos genotípicos que se obtengan al analizar once marcadores microsatélites así como por el análisis del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en el gen MSTN.

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

Evaluar la variabilidad genético-molecular en poblaciones de la raza Charolais provenientes de diferentes regiones agroecológicas de México.

#### **5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Formar bancos de ADN de poblaciones de la raza Charolais provenientes de diferentes regiones agroecológicas de México.

Analizar la frecuencia de la mutación Q204X del gen MSTN de las poblaciones seleccionadas utilizando un ensayo de discriminación alélica.

Analizar la diversidad genética de las poblaciones seleccionadas, utilizando marcadores microsatélites.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Material Biológico

Se colectaron 194 muestras de sangre de individuos de la raza Charolais provenientes de tres hatos localizados en Nuevo León y Veracruz (figuras 5 y 6).



**Figura 5. Ubicación Geográfica de los hatos de Nuevo León:** Rancho “JR La Nutria” localizado en San Juan, Cadereyta Jiménez, N. L. Rancho “La Querencia” localizado en Hualahuises, N. L. Tomado de: <http://www.siem.gob.mx/portalsiem/Mapa/xmun.asp?edo=19>



**Figura 6. Ubicación Geográfica del hato de Veracruz:** Rancho “El Jurel” localizado en Congregación Trinidad, Pánuco. Huasteca Veracruzana. Tomado de: <http://www.siem.gob.mx/portalsiem/Mapa/xmun.asp?edo=19>

Los criterios de selección de los hatos incluyeron contar con registros productivos, que estén ubicados en diferentes regiones agroecológicas con climas característicos, así como por contar con una historia que los ubique como fundadores. Los ranchos seleccionados se caracterizan por ser poblaciones bien establecidas (más de 30 años), cuyos criterios de selección incluyen la conformación y ganancia de peso. El origen del material genético es de diferentes países (Francia, Inglaterra, Irlanda, México y EEUU), además estos ranchos son distribuidores y están estableciendo la genética de la raza en la región (cuadro 3).

**Cuadro 3. Resumen del Cuestionario para la evaluación del desarrollo, morfología, comportamiento y limitaciones biológicas de ganado de la raza Charolais**

Nombre del Rancho Parámetro	“La Querencia” Integradora Charolais	“El Jurel” S. P. R. de R. I.	JR “ La Nutria”
Ubicación	Hualauises N. L.	Congregación Trinidad Panuco Veracruz	San Juan, Cadereyta Jiménez, N. L.
Objetivo de crianza	Pie de cría Sementales de registro Hembras de reemplazo	Sementales de registro para mejoramiento genético	Pie de cría Sementales de registro Hembras de reemplazo
Tipo de ganado	Charolais Full French	Charolais Full French Charolais moderno Tipo Americano	Charolais Full French
Tipo de ganadería	Ganado de Registro	Ganado de Registro	Ganado de Registro
Región Ganadera	Árida y semiárida	Tropical Húmeda	Árida y semiárida
Clima	Subhúmedo	Tropical	Semiárido c/ microclima húmedo
Origen del material genético	Francia	México	Francia Inglaterra Irlanda
Evaluación genética	Peso al nacer Peso al destete Peso al año Área pélvica	Peso al destete	Peso al nacer Peso al destete Peso al año 200, 400 y 600 días
Disposición del producto final	Pie de cría	Pie de cría	Pie de cría



En los hatos “El Jurel” y “La Querencia”, la muestra de sangre se tomó de 45 hembras y ocho sementales y 79 hembras y un semental, respectivamente. En el hato JR “La Nutria” de 80 individuos muestreados, 63 fueron hembras y 17 machos.

## 6.2. MÉTODOS

### 6.2.1. Extracción de ADN genómico a partir de muestras de sangre

Para la extracción de ADN a partir de muestras de sangre se utilizó la técnica de precipitación de sales (Sunnucks & Hales, 1996; Aljanabi & Martínez, 1997) [Sambrook *et al.*, 1989]. Se colocó de 2 a 3 ml de sangre en tubos tipo falcon de 15 ml y a cada uno se le agregó 9 ml de solución de lisis I (155 mM NH<sub>4</sub>Cl, 10 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) se incubaron en hielo durante 15 min, mezclando por inversión de manera suave, posteriormente se centrifugaron durante 10 min a 2000 rpm, enseguida se descartó el sobrenadante y resuspendió la pastilla de leucocitos obtenida en 3 ml de solución de lisis I, se incubaron nuevamente en hielo durante 5 min y se volvió a centrifugar durante 10 min a 2000 rpm, se repitió la operación hasta obtener una pastilla limpia de color blanco, se eliminó el sobrenadante y lavó la pastilla con 3 ml de solución de lisis y los leucocitos se resuspendieron en 100 µl de TE IX. Se agregaron 30 µl de proteinasa K (20mg/ml) y 3 ml de solución TEN (0.4 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl pH 8, EDTA, pH 8)/2% SDS, en una proporción 9:1 (solución de lisis II) y se incubaron toda la noche en baño de agua a 37°C. Se les agregó 1.5 ml de NaOAc (pH 5.2) y se agitaron al vortex vigorosamente por 10 a 15 seg (para precipitar la proteína, la agitación rompe las cadenas de ADN a fragmentos de 10-20 kb), posteriormente se centrifugaron a 2500g durante 30 min. Se recuperó el sobrenadante y se precipitó el ADN agregando 10 ml de etanol 100% frío, enseguida se incubaron a -20°C durante 1hr, se centrifugaron y se lavó la pastilla con etanol al 70%, nuevamente se centrifugaron, se seco la pastilla y resuspendió en 500 µl de TE 1X transfiriendo a tubos eppendorf de 1.5 ml, se dejaron en incubación en el termomixer a 800 rpm a temperatura ambiente (25°C) y se almacenaron a -20°C.

### 6.2.2. Cuantificación de ADN genómico

Después de la extracción de ADN a partir de muestras de sangre, se procedió a cuantificarlo por espectrofotometría para determinar su calidad. Se prepararon tubos eppendorf de 1.5 ml con 1 ml de TE 1X, y a cada uno se le agregaron de 5 µl de cada muestra problema, se resuspendió la muestra subiendo y bajando la mezcla con la pipeta, posteriormente se agitó con el vortex seguido de una centrifugación corta para concentrar el volumen, enseguida se transfirió todo el volumen a una celda de 1 ml y se procedió a leer la absorbancia a 260nm y 280nm en el Espectrofotómetro (Vis/UV Beckman Coulter DU 650), usando TE1X como blanco. Posteriormente se hicieron los cálculos para la determinación de la calidad y concentración de ADN de cada muestra [De La Rosa, 2003].

La concentración de ADN se determinó de la siguiente manera:

$$\text{Concentración } (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = (\text{Abs } 260 \text{ nm}) (\text{factor de dilución}) (\text{factor de conversión}).$$

Donde:

**Abs 260nm** = Absorbancia a 260 nm

**Factor de dilución** = (Vol. de TE1X + Vol. de la muestra) / (Vol. de la muestra)

**Factor de conversión** = 50 µg/ml para un ADN de doble cadena

La calidad de las muestras extraídas se obtuvo de la siguiente fórmula:

**Calidad** = Abs 260nm/Abs 280nm

El rango de calidad aceptable se encuentra entre 1.8-2.0.

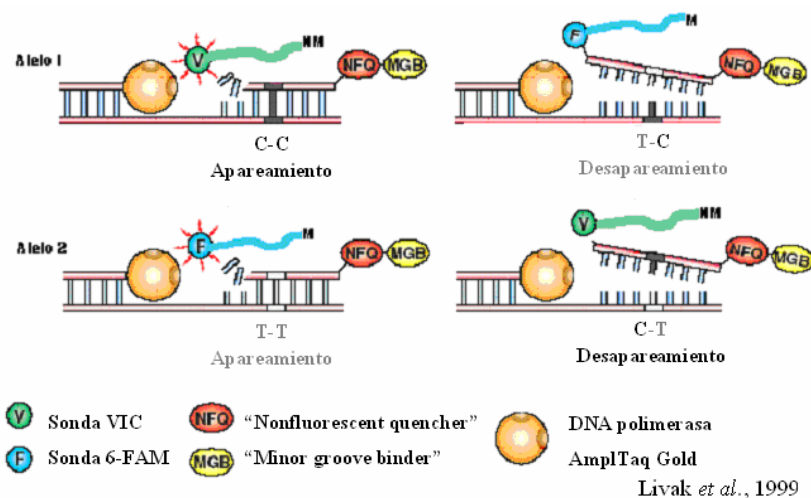
### 6.2.3. Análisis de las poblaciones con marcadores del tipo I

#### 6.2.3.1. Identificación de la mutación Q204X del gen MSTN

La mutación Q204X en el gen MSTN, previamente reportada para la raza Charolais europea se analizó utilizando el estuche de discriminación alélica en el equipo Q-PCR de Applied Biosystems [Applied Biosystem Protocol, 2002]. La discriminación alélica detecta polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) y se realizó con un ensayo fluorogénico de nucleasa 5'. La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo utilizando dos sondas marcadas con fluróforos diferentes FAM y VIC (figura 7) y la señal fluorescente fue

cuantificada. El incremento de la fluorescencia en VIC indica la ausencia de mutación, en FAM la mutación y en ambos marcadores identifica a los heterocigotos.

A partir de la secuencia reportada para el gen MSTN de bovino (*Gene Bank*: AF01962), se diseñaron los iniciadores y las sondas específicas para la detección del alelo mutado y no mutado. (Iniciador-derecho 5'-GGAATCCGATCTCTTGAACTTGACA-3' y Iniciador-izquierdo 5'GCTCTGCAACACTGTCTTCAC-3'; sonda-VicQ204X 5'-CAATGCTCTGCCAAATA y sonda-famQ204X 5'ATCAATGCTCTACCAAATA). Los iniciadores y sondas fueron sintetizados en la compañía Applied Biosystems y para los ensayos se utilizaron placas ópticas de 96 pozos y se realizaron en el equipo ABI Prism 7000 Sequence Detection System, en las siguientes condiciones: un ciclo de 2 min a 50°C y 10 min a 95°C, seguido de 40 ciclos de dos pasos, 15 s a 92°C y 1 min a 60°C. Se utilizaron 250 ng de ADN, 12.5µl of Taq Man PCR master mix (Applied Biosystems), y 0.625µl de la mezcla de sondas e iniciadores (Assay SNP mix). El análisis de cada genotipo fue llevado a cabo utilizando el paquete computacional ABI Prism 7000 Sequence Detection System, adicionalmente cada muestra fue visualizada mediante análisis de curvas de amplificación. Se utilizó una sonda sintética de DNA de cadena sencilla que contiene la mutación específica del alelo Q204X (Q204X-control 5'TATACTGGAATCCGATCTCTGAACTTGACATGAACCCAGGCACTGGTATTTG GTAGAGCATTGATGTGAAGACAGTGTTGCAGAGCTGGCTC) fue utilizada como control positivo durante cada ensayo de discriminación alélica. Después de asignar cada genotipo se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas en las poblaciones total así como también de cada hato evaluado.



**Figura 7. Esquema de Discriminación Alélica.** Este análisis detecta polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), se realiza con un ensayo fluorogénico de nucleasa 5'. La reacción en cadena de la polimerasa se lleva a cabo utilizando dos sondas marcadas con fluróforos diferentes FAM y VIC, y la señal fluorescente se cuantificada. El incremento de la fluorescencia en VIC indica la ausencia de mutación, en FAM la mutación y en ambos marcadores identifica a los heterocigotos.

## 6.2.4. Análisis de las poblaciones con marcadores del tipo II

### 6.2.4.1. Establecimiento del panel de marcadores microsatélites

El cuadro 4 muestra las características de los marcadores microsatélites utilizados en este estudio. El panel incluyó seis loci de los reportados por Stockburger *et al.*, en 1999 como marcadores informativos en genoma de bovino, y recomendados por la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG), incluyendo los seleccionados por Salazar, 2001, los cuales han demostrado ser altamente informativos y específicos para la identificación de individuos de la raza Charolais del noreste de México [Salazar *et al.*, 2004]. También fueron utilizados cuatro reportados como asociados a ganancia de peso [De La Rosa, 2003; Grosz y MacNeil 2001; Casas *et al.*, 1998], así como los reportados por MacHugh y colaboradores utilizados en un estudio de diversidad de diferentes razas de ganado bovino [MacHugh *et al.*, 1997].

**Cuadro 4. Características de los microsatélites analizados**

Marcador	Locus	Cr	Rango	Alelos	Secuencia nucleotídica de los Iniciadores
BM2123	D2S26	2	123-143	11	5'-GCTGCCTTCTACCAAATACCC-3' 5'-CTTCCTGAGAGAAGCAACACC-3'
ETH10	D5S3	5	212-224	7	5'-GTTCCAGGACTGGCCCTGCTAACA-3' 5'-CCTCCAGCCCACTTTCTTCTC-3'
INRA37	D10S12	10	120-146	12	5'-GATCCTGCTTATATTTTAACCAC-3' 5'-AAAATTCATGGAGAGAGAAAC-3'
BM1824	D1S34	1	178-192	8	5'-GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC-3' 5'-CATCTCCAACCTGCTTCCTG-3'
TGLA44	NR	2	136-172	16	5'-AACTGTATATTGAGAGCCTACCATG-3' 5'-CACAACTTAGCGACTAAACCACCA-3'
BMS1886	NR	2	134-158	11	5'-CAGGGACTGAAAAATAATGCC-3' 5'-TTCCATGTTGATTGTTTCTTCC-3'
BMS1987	NR	2	108-124	5	5'-TGATGCAGAGAACGTTTTAATTT-3' 5'-CTTGGGGTAGGCAGAGATTT-3'
TGLA53	D16S3	16	152-186	14	5'-GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA-3' 5'-ATCTTCACATGATATTACAGCAGA-3'
INRA23	D3S10	3	197-223	11	5'-GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC3' 5'-TAACTACAGGGTGTAGATGAACTC-3'
ILSTS005	D10S25	5	181-185	3	5'-GGAAGCAATGAAATCTATAGCC-3' 5'-TGTCTGTGAGTTTGTAAAGC-3'
HEL5	D21S15	21	147-165	9	5'-GCAGGATCACTTGTAGGGA-3' 5'-AGACGTTAGTGTACATTAAC-3'

Cr (Cromosoma), Rango (Rango alélico [pb]), Alelos (Número de alelos reportados en Bovino) NR (no reportado). Datos reportados por MARC (Meat Animal Research Center, USDA), y por Roslin Institute, Edinburgh).

#### 6.2.4.2. Selección de las condiciones de amplificación de los microsatélites

Para cada marcador, la reacción de PCR fue optimizada por Salazar, 2002 y De La Rosa, 2003 respectivamente, controlando parámetros críticos como tiempo, temperatura de alineamiento y número de ciclos, también fueron optimizadas las concentraciones de los iniciadores, el ion magnesio, la enzima Taq polimerasa y la concentración del ADN El volumen final en todas las reacciones de PCR fue de 10 µl y las concentraciones de Buffer (1X), dNTP's 0.4 mM (Promega, Cat. U1240) se mantuvieron constantes. En el cuadro 5 se representan los cuatro programas de amplificación basados en la técnica de "Touch Down" [McPherson y Møller, 2000] que fueron utilizados durante la PCR, y en el cuadro 6 las condiciones de amplificación.

Programas de amplificación: Consiste en ir disminuyendo la temperatura de alineamiento 2°C en cada ciclo de los primeros cinco, para TDTG partiendo de 58°C

(TD55-62°, TD60-65°, TD65-68°), hasta alcanzar una temperatura de alineamiento de 50°C (TD55-55°, TD60-60°, TD65-65°) y mantener esta temperatura los siguientes 30 ciclos.

**Cuadro 5. Programas de amplificación por PCR**

Tiempo	TDTG		TD55		TD60		TD65	
	Temp. °C	No. Ciclos	Temp. °C	No. Ciclos	Temp. °C	No. Ciclos	Temp. °C	No. Ciclos
5 min	95	1	95	1	95	1	95	1
45 s	95		95		95		95	
45 s	58 – 2 cada ciclo	} 5	62 – 2 cada ciclo	} 5	65 – 2 cada ciclo	} 5	68 – 2 cada ciclo	} 5
45 s	72		72		72		72	
45 s	95		95		95		95	
45 s	50		55		60		65	
45 s	72		30		72		30	
10 min.	72	1	72	1	72	1	72	1

**Cuadro 6. Condiciones de P CR para los marcadores**

	<b>BMS1866</b>	<b>BMS1987</b>	<b>DIS34</b>	<b>D2S26</b>	<b>ETH10+</b>	<b>HEL5**</b>	<b>ILSTS005**</b>	<b>INRA23+</b>	<b>INRA537**</b>	<b>TCLA44</b>	<b>TCLA53**</b>
ADN	50ng	50ng	2.5ng	50ng	50ng	50ng	2.5ng	30 ng	30 ng	20ng	50 ng
Buffer	1X	1X	1X	1X	1X	1X	1X	1X	1X	1X	1X
MgCl <sub>2</sub>	3mM	3mM	1.2mM	3mM	3mM	1mM	0.8mM	3mM	3mM	3mM	2mM
dNTP's	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm	0.4 Mm
Iniciador 5'	0.0075µM	0.0075µM	0.008µM	0.01µM	0.005µM	0.015µM	0.015µM	0.02µM	0.015µM	0.025µM	0.025µM
Iniciador 3'	0.0375µM	0.0375µM	0.038µM	0.05µM	0.025µM	0.075µM	0.075µM	0.1µM	0.075µM	0.125µM	0.125µM
Taq Polimerasa	0.125U	0.125U	0.1U	0.125U	0.125U	0.1U	0.1U	0.125U	0.125U	0.125U	0.125U
Programa de PCR	TD60	TD60	TD55	TD55	TD55	TDTG	TDTG	TDTG	TDTG	TD6S	TDTG

**Las columnas muestran las condiciones de amplificación descritas por Salazar (2002) (\*) y De la Rosa (2003) (\*\*) para bovino**

#### **6.2.4.3. Genotipificación**

Se amplificaron los once marcadores para los 194 individuos muestreados de las tres poblaciones y el producto de amplificación fue visualizado por electroforesis en gel de acrilamida al 6.5 % de 25 cm de longitud y 0.4 mm de grosor de acuerdo con las especificaciones para genotipificación del proveedor [LI-COR, 1999]. Para determinar el tamaño de los alelos se utilizó como referencia un marcador de peso molecular (Size Standard IRDye 800 50-350bp, LI-COR). La genotipificación se realizó utilizando el programa SAGA<sup>GT</sup>, con las imágenes de los geles de electroforesis obtenidas desde el secuenciador LI-COR. Aunque el programa posiciona los carriles y calibra los tamaños de las bandas de manera automática, se realizó una corrección manual de aquellos carriles y bandas mal asignados.

#### **6.2.4.4. Análisis de la diversidad alélica**

El análisis de la diversidad alélica se realizó con el programa Cervus 2.0 [Marshall, 1998-2001] a partir de los datos obtenidos de la genotipificación con el programa SAGA<sup>GT</sup>. El análisis para cada *locus* incluyó: el número de alelos encontrado y sus frecuencias alélicas, número de individuos analizados, total de homocigotos y heterocigotos,  $H_O$  y  $H_E$  y equilibrio de Hardy-Weinberg.

#### **6.2.4.5. Diversidad genética entre poblaciones**

Genetix cuenta con una herramienta que permite establecer un análisis factorial de correspondencias. Este procedimiento describe la asociación de variables cualitativas, en la que cada individuo está representado sólo una vez por el valor de cada modalidad (*locus*) y variable (alelos para cada *locus*). En este caso, los individuos analizados pertenecen a una población y están representados por los valores propios de sus frecuencias alélicas; los valores de inercia en cada eje pueden ser interpretados como combinaciones lineales de los valores  $F_{ST}$  (Varianza de frecuencias alélicas entre poblaciones) monolocus, los resultados son mostrados como gráficas bidimensionales o tridimensionales en las que los individuos se ven como nubes de puntos en el hiperespacio, que tiene tantas dimensiones como modalidades (alelos) haya en todas las variables (alelos en los diferentes *loci*)



la relación que guarda con respecto a los demás individuos está en función de la distancia que existe entre ellos [Belkhir *et al.*, 2004].

$F_{ST}$ , es el índice de fijación, mide los efectos de la subdivisión de la población, es decir, el grado de diferenciación génica entre las poblaciones, en función de las frecuencias alélicas y se refiere a la consanguinidad en las subpoblaciones (S), en relación a la población total (T), de la cual ella es parte.

El rango de  $F_{ST}$  es de 0-1, según se muestra en el cuadro 7 el grado de diferenciación genética puede inferirse de acuerdo a los los valores de  $F_{ST}$  . En cero no existe divergencia genética y en uno hay fijación para alelos alternos en diferentes subpoblaciones [Cornell University, 2004].

**Cuadro 7. Interpretación de valores de  $F_{ST}$**

$F_{ST}$	Diferenciación genética
0 a 0.05	Escasa
0.05 a 0.15	Moderada
0.15 a 0.25	Alta
> 0.25	Muy alta

La estructura de las poblaciones fue determinada por un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) usando el software Arlequin [Schneider *et al.*, 2000], bajo un diseño jerárquico que considera variaciones entre poblaciones y dentro de individuos de cada población.

#### **6.2.4.6. Análisis Factorial por Correspondencia AFC**

Se realizó un AFC para las tres poblaciones de ganado Charolais provenientes de “El Jurel”, JR “La Nutria” y “La Querencia” de manera simultánea con los datos de genotipificación reportados en el CaDBase Roslin de una población de la raza Charolais

proveniente de Dublín como referencia comparativa utilizando cinco marcadores microsatélites en común (BM2113, ETH10, INRA37, INRA23, ILSTS005 y HEL5).

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Análisis de las poblaciones con el marcador del tipo I

#### 7.1.1. Análisis de la mutación Q204X del gen MSTN

De los 194 individuos analizados pertenecientes a la raza Charolais, 12 indican la presencia de la mutación Q204X en el exón II del gen MSTN. En el hato del rancho “La Querencia”, de 71 animales estudiados el 2.81% fueron heterocigotos datos que corresponden a 2 hembras preñadas y la frecuencia de mutación del alelo fue de tan solo del 0.014%. De 43 animales estudiados del rancho “El Jurel”, se encontró en un 9.3% el genotipo heterocigoto AB correspondientes a 2 hembras y 2 sementales siendo su frecuencia alélica del 0.047%; y en el tercer hato (JR “La Nutria”) 3 hembras, 3 becerros y 1 semental que corresponden al 8.75% de los 80 animales estudiados, fueron heterocigotos presentando una frecuencia alélica del 0.044%. En las tres poblaciones estudiadas ningún animal fue homocigoto para el alelo mutado AA (cuadro 8).

**Cuadro 8. Frecuencias genotípicas y alélicas de la mutación del gen MSTN en ganado Charolais**

Hato	n	Frec. de los genotipos (%)			Frec. de los alelos	
		AA	AB	BB	A	B
“El Jurel”	43	-	9.3	90.7	0.047	0.953
“La Querencia”	71	-	2.81	97.18	0.014	0.986
JR “La Nutria”	80	-	8.75	91.25	0.044	0.956

n = número de muestras, A = alelo mutado (Q204X), B = alelo no mutado (normal).

### 7.2. Análisis de las poblaciones con marcadores del tipo II

#### 7.2.1. Genotipificación de las poblaciones con marcadores microsatélites

Se realizó la amplificación de los once marcadores microsatélites para los 194 individuos muestreados de las tres poblaciones seleccionadas, en la figura 8 se muestra un gel de electroforesis con la calidad ideal para ser leído por el programa SAGA<sup>GT</sup> para

genotipificación, se muestra la amplificación de la población del rancho JR “La Nutria” con INRA37.

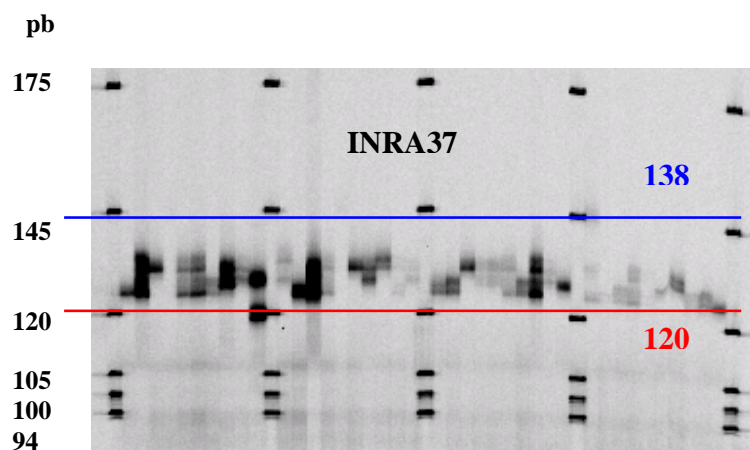


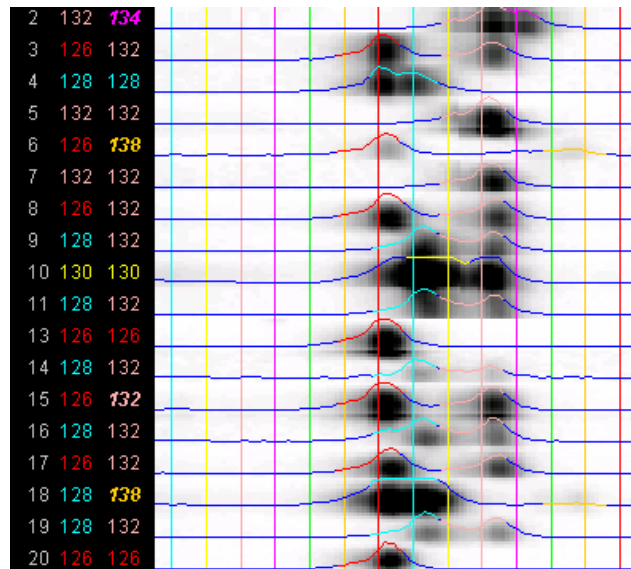
Figura 8. Gel de electroforesis en el equipo LI-COR.

Los tamaños alélicos se asignaron de manera automatizada con el programa SAGA<sup>GT</sup>, cuando la fluorescencia en las bandas fue demasiado intensa o débil y el programa fue incapaz de discriminar para la asignación de alelos, se hizo una asignación manual. En el cuadro 9, se muestra el número de individuos analizados por población y por *locus*. Las figuras 9 y 10 muestran la manera en que el programa SAGA<sup>GT</sup> presenta la asignación de alelos para cada individuo durante la genotipificación. (9) muestra la diversidad de alelos encontrados (dentro del rango de 120 a 146 pb) para el *locus* INRA37 en la población del rancho JR “La Nutria”. (10) muestra el locus ETH10 en la población del rancho “La Querencia” donde predomina un solo alelo (211 pb) para la mayoría de los individuos. Los números en colores representan el tamaño de cada alelo encontrado, los corregidos manualmente se muestran en cursiva.

**Cuadro 9. Número de individuos analizados con el Programa SAGA<sup>GT</sup> por población y por locus.**

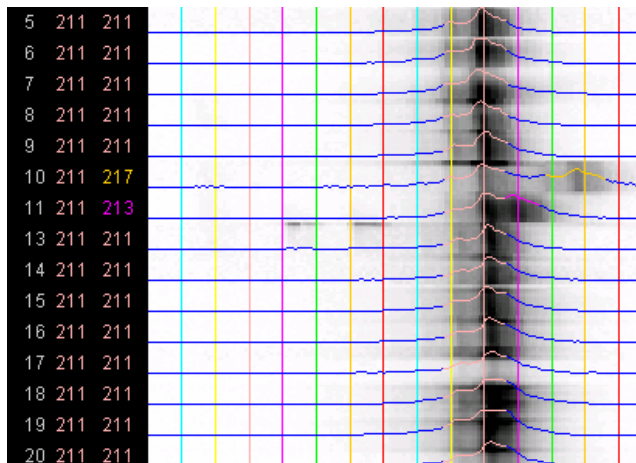
Marcador	Locus	No. de individuos analizados		
		“La Querencia”	JR “La Nutria”	“El Jurel”
BM2113	D2S26	50	79	39
ETH10	D5S3	47	75	34
INRA37	D10S12	49	77	38
BM1824	D1S34	50	75	37
TGLA44	NR	47	75	32
BMS1886	NR	49	71	33
BMS1987	NR	50	80	38
TGLA53	D16S3	50	69	35
INRA23	D3S10	49	77	37
ILSTS005	D10S25	49	75	39
HEL5	D21S15	48	74	36

**INRA37 rancho JR “La Nutria”**



**Figura 9. Genotipificación en el programa SAGA<sup>GT</sup>**

**ETH10 rancho “La Querencia”**



**Figura 10. Genotipificación en el programa SAGA<sup>GT</sup>**

### 7.3. Análisis de la Diversidad Alélica

#### 7.3.1. Diversidad genética intrapoblaciones

Los once microsatélites mostraron un alto polimorfismo en la población estudiada ( $n = 194$ ), con un número total de alelos por locus que varía entre 8 y 18. El análisis de diversidad alélica realizado con el programa Cervus 2.0 mostró que el número de alelos encontrados por *locus* fue muy similar en las poblaciones estudiadas (cuadro 10). Los marcadores más diversos fueron INRA23 y TGLA53 (13 y 14 alelos, respectivamente), el *locus* TGLA53 presentó el mayor número de alelos en las 194 muestras (18 alelos) así como el mayor número de alelos dentro de una población (14 alelos). Dentro de los marcadores polimórficos ETH10 mostró el menor número total de alelos (7 alelos), todos se encontraron en la población de “El Jurel”, mientras que en la querencia solo se presentaron tres del total.

**Cuadro 10. Número de alelos por *locus* encontrado en cada población.**

Locus	Población			Total
	“La Querencia”	JR “La Nutria”	“El Jurel”	
BM2113 (D2S26)	8	9	9	10
ETH10 (D5S3)	3	5	7	7
INRA37 (D10S12)	7	12	9	13
BM1824 (D1S34)	6	8	8	10
TGLA44	8	11	10	13
BMS1886	11	11	10	13
BMS1987	4	8	8	9
TGLA53 (D16S3)	13	14	13	18
INRA23 (D3S10)	13	13	13	16
ILSTS005 (D10S25)	3	4	7	8
HEL5 (D21S15)	8	10	12	15

### 7.3.2. Frecuencias alélicas

El *locus* ETH10 en el hato “El Jurel” mostró la única serie alélica (de 203 a 217) observada en el análisis de las poblaciones con los once *loci* microsatélites (cuadro 11). Las tres poblaciones mostraron alelos privados destacando el mayor número en “El Jurel”, con 7 alelos privados en 5 *loci*, seguido de JR “La Nutria” y “La Querencia” con 6 y 5 alelos privados, respectivamente.

**Cuadro 11. Frecuencias alélicas**

Marcador	Tamaño del alelo	Frecuencia		
		JR La Nutria	La Querencia	El Jurel
BM2113	125		0.0900	0.0256
	127	0.0380	0.0200	0.0513
	129	0.0063	0.0600	0.0641
	131	0.0190	0.3300	0.2949
	133	0.3481	0.1200	0.1282
	135	0.2215	0.1800	0.1538
	137	0.1646	0.1900	0.1923
	139	0.1519	0.0100	0.0256
	141	0.0380		0.0641
	143	0.0127		
ETH10	203			0.0113
	205			0.0113
	209	0.2000		0.1857
	211	0.7467		0.2138
	213	0.0267	0.2128	0.0578
	215	0.0133	0.6809	0.0227
	217	0.0133	0.1064	0.0113
INRA37	114			0.0263
	118	0.0065		
	120	0.0260		0.0395
	122	0.0260		
	124	0.1364		
	126	0.2338	0.2857	0.2237
	128	0.1688	0.3265	0.2500
	130	0.1299	0.0612	0.0526
	132	0.1948	0.2245	0.2763
	134	0.0325	0.0612	0.0921
	138	0.0130		
	144	0.0065	0.0102	0.0263
	146	0.0260	0.0306	0.0132



**Continúa Cuadro 11.**

Marcador	Tamaño del alelo	Frecuencia		
		JR La Nutria	La Querencia	El Jurel
BM1824	174			0.0405
	176			0.1081
	178	0.0400	0.2300	0.2568
	180	0.3000	0.1900	0.3784
	182	0.2200	0.2800	0.0541
	184	0.2600	0.0200	0.0135
	186	0.0067		0.0811
	188	0.0333	0.1600	0.0676
	190	0.1133	0.1200	
	192	0.0267		
TGLA44	141	0.0133		
	143	0.0600	0.0213	0.0469
	145	0.0600		0.0156
	147	0.0133		
	159	0.0067		0.0156
	161	0.2133	0.2128	0.1250
	162	0.0133		
	163	0.1267	0.0532	0.1094
	165	0.3200	0.5213	0.2500
	167	0.1400	0.1064	0.2344
	169	0.0333	0.0638	0.1406
	171		0.0106	0.0469
	175		0.0106	0.0156
BMS1886	131	0.0070	0.0612	
	133	0.4437	0.4694	0.4394
	135			0.0152
	137	0.0141		0.0303
	139	0.0352	0.0102	
	143		0.0102	
	145	0.0141	0.0102	0.0606
	147	0.0423	0.1122	0.1061
	149	0.1761	0.1327	0.1970
	151	0.0423	0.0612	0.0455
	153	0.0704	0.0102	0.0303
	155	0.0915	0.0510	0.0606
	157	0.0634	0.0714	0.0152

**Continúa Cuadro 11.**

Marcador	Tamaño del alelo	Frecuencia		
		JR La Nutria	La Querencia	El Jurel
BMS1987	108	0.0063		
	110	0.2250		0.0921
	112	0.2750	0.5300	0.3947
	114	0.0437	0.0300	0.0263
	118			0.0132
	120	0.1937		0.1053
	122	0.2250	0.4100	0.2237
	124	0.0188		0.0263
	126	0.0125	0.0300	0.1184
TGLA53	145	0.0072		
	147	0.0217		
	149	0.0072	0.0900	
	151	0.0725	0.1200	0.1429
	153	0.0580	0.1500	
	155	0.1304	0.0900	0.0143
	157	0.2536	0.1300	0.2143
	159	0.1232	0.0400	0.1000
	161	0.0725	0.0300	0.0429
	163	0.0725	0.900	0.0857
	165	0.0290	0.0700	0.1571
	167	0.0797	0.1000	0.1143
	169	0.0290	0.0400	0.0429
	171		0.0300	
	173		0.0200	0.0286
175	0.0435		0.0286	
177			0.0143	
183			0.0143	
ILSTS005	179			0.0128
	181	0.0800		0.1282
	183	0.4133	0.1735	0.4359
	185	0.5000	0.4592	0.3718
	187		0.3673	
	189	0.0067		0.0256
	191			0.0128
	193			0.0128

**Continúa Cuadro 11.**

Marcador	Tamaño del alelo	Frecuencia		
		JR La Nutria	La Querencia	El Jurel
INRA23	193	0.0390		
	195	0.0519		
	197	0.0584	0.0204	0.0676
	199	0.1948	0.0306	0.0135
	201	0.0649	0.1122	0.0135
	203	0.2143	0.1224	0.0946
	205	0.1429	0.1224	0.1892
	207	0.0390	0.2755	0.1081
	209	0.0584	0.0816	0.1892
	211	0.0779	0.0306	0.0811
	213	0.0325	0.0714	0.0946
	215	0.0195	0.0408	0.0405
	217	0.0065	0.0204	0.0811
	219		0.0612	0.0135
	221		0.0102	
223			0.0135	
HEL5	159		0.0104	
	161	0.0878	0.0417	0.0556
	163		0.0521	
	165	0.1757	0.4792	0.0694
	167	0.0338	0.0208	0.2083
	169			0.1528
	171			0.0278
	173			0.0139
	175	0.0676	0.0417	
	177	0.0541	0.0313	0.0139
	179	0.0541	0.3229	0.1806
	181	0.0135		0.0972
	183	0.2095		0.0694
	185	0.2770		0.0139
	187	0.0270		0.0972

### 7.3.3. Heterocigocidad

El cálculo de las frecuencias alélicas permitió determinar la heterocigocidad y comparar entre la  $H_E$  y  $H_o$ . En general, la  $H_E$  fue mayor que la  $H_o$ ; en el caso de BMS1886 para la población de “La Querencia”; BMS1987 para la población de “La Querencia” y la de “El Jurel”; y HEL5 para “La Querencia” se observó que la  $H_E$  fue menor que la  $H_o$  (cuadro 12).

### 7.3.4. Prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg

En el total de las poblaciones y con excepción del locus BMS1886, todos los loci analizados mostraron desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P < 0.01$ ) (cuadro 12). La prueba de  $F_{IS}$  mostró que en la mayoría de los *loci* en desequilibrio existe déficit de Heterocigotos principalmente en el locus ETH10 y HEL5. Al aplicar la prueba en cada población se observó que en “La Querencia” solo el locus D2S26 mostró desviación al equilibrio H-W, mientras que en “La Nutria y El Jurel” se presentaron 5 y 2 loci en desequilibrio, respectivamente.

### 7.3.5. Diversidad genética interpoblaciones

Utilizando el software Arlequín basado en el Análisis de Varianza Molecular AMOVA se determinó el grado de variabilidad interpoblaciones (cuadro 13). La diferencia estadísticamente significativa se deduce si los componentes de la varianza o  $F$  calculada es mayor a su correspondiente  $F$  de tablas [Cornell University, 2004]. De tal manera que  $F_{ST} = 0.07970 > 0.050$  indica que hay moderada diferenciación interpoblaciones pero estadísticamente significativa ( $P = 0.00000$ ).

La variación genética en las poblaciones estudiadas es principalmente atribuible al nivel de variación individual, la variación de individuos intrapoblación e interpoblación representó 92.03% y 7.97% de variación respectivamente.

Cuadro 12. Valores de  $H_E$ ,  $H_0$  y  $HW$

Marcador	Locus	Población													
		"La Querencia"				JR "La Nutria"				"El Jurel"				Total	
		$H_E$	$H_0$	$HW$		$H_E$	$H_0$	$HW$		$H_E$	$H_0$	$HW$		$H_E$	$H_0$
BM2113	D2S26	0.804	0.520	**	0.781	0.253	**	0.834	0.410	NA	0.802	0.369	**		
ETH10	D5S3	0.485	0	NA	0.404	0.093	NA	0.651	0.235	**	0.700	0.096	**		
INRA37	D10S12	0.761	0.592	NS	0.846	0.636	NA	0.807	0.605	NA	0.820	0.616	**		
BM1824	D1S34	0.800	0.780	NA	0.783	0.600	**	0.774	0.514	**	0.827	0.636	**		
TGLA44	NR	0.671	0.532	NS	0.813	0.467	**	0.843	0.344	NA	0.790	0.461	**		
BMS1886	NR	0.741	0.755	NS	0.755	0.732	NS	0.757	0.636	NS	0.751	0.719	NS		
BMS1987	NR	0.555	0.560	NS	0.788	0.663	NS	0.769	0.816	NS	0.748	0.667	**		
TGLA53	D16S3	0.911	0.680	NA	0.880	0.493	NA	0.885	0.714	NA	0.902	0.604	**		
INRA23	D3S10	0.870	0.469	NA	0.877	0.558	NA	0.891	0.649	NA	0.902	0.552	NA		
ILSTS005	D10S25	0.631	0.388	NS	0.577	0.440	**	0.663	0.436	**	0.656	0.423	**		
HEL5	D21S15	0.665	0.688	NS	0.834	0.257	**	0.880	0.167	NA	0.869	0.367	**		

$H_E$  = Heterocigotidad esperada;  $H_0$  = Heterocigotidad observada;  $HW$  = Equilibrio Hardy-Weinberg.

**Cuadro 13. Análisis de Varianza Molecular AMOVA a partir en cuatro poblaciones de ganado**

**Charolais.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% de Variación
Interpoblaciones	2	76.971	0.32372 Va	7.97
Intrapoblaciones	335	1252.254	3.73807 Vb	92.03
Total	337	1329.225	4.06179	
Índice de fijación	F <sub>ST</sub> : 0.07970			
Pruebas de significancia	(10:100 permutaciones)			
Va y F <sub>ST</sub>	P(valor al azar > valor observado) = 0.00000			
	P(valor al azar = valor observado) = 0.00000			
	P(valor al azar < valor observado) = 0.00000 ± 0.00000			

F<sub>ST</sub> = Varianza de frecuencias alélicas entre poblaciones.

Va = Suma de las varianzas debido a diferencias entre las poblaciones de los grupos.

Vb = Suma de las varianzas debido a diferencias entre haplotipos en diferentes poblaciones dentro de un grupo.

### 7.3.6. Análisis Factorial por Correspondencias (AFC)

Los resultados del análisis de la diversidad genética de las poblaciones incluyendo la información genotípica de una población de Charolais proveniente de Dublín, agrupó a las poblaciones de acuerdo al origen geográfico (figura 11). Las tres poblaciones (“El Jurel”, “La Querencia” y “La Nutria”), se separaron de la población de Dublín.

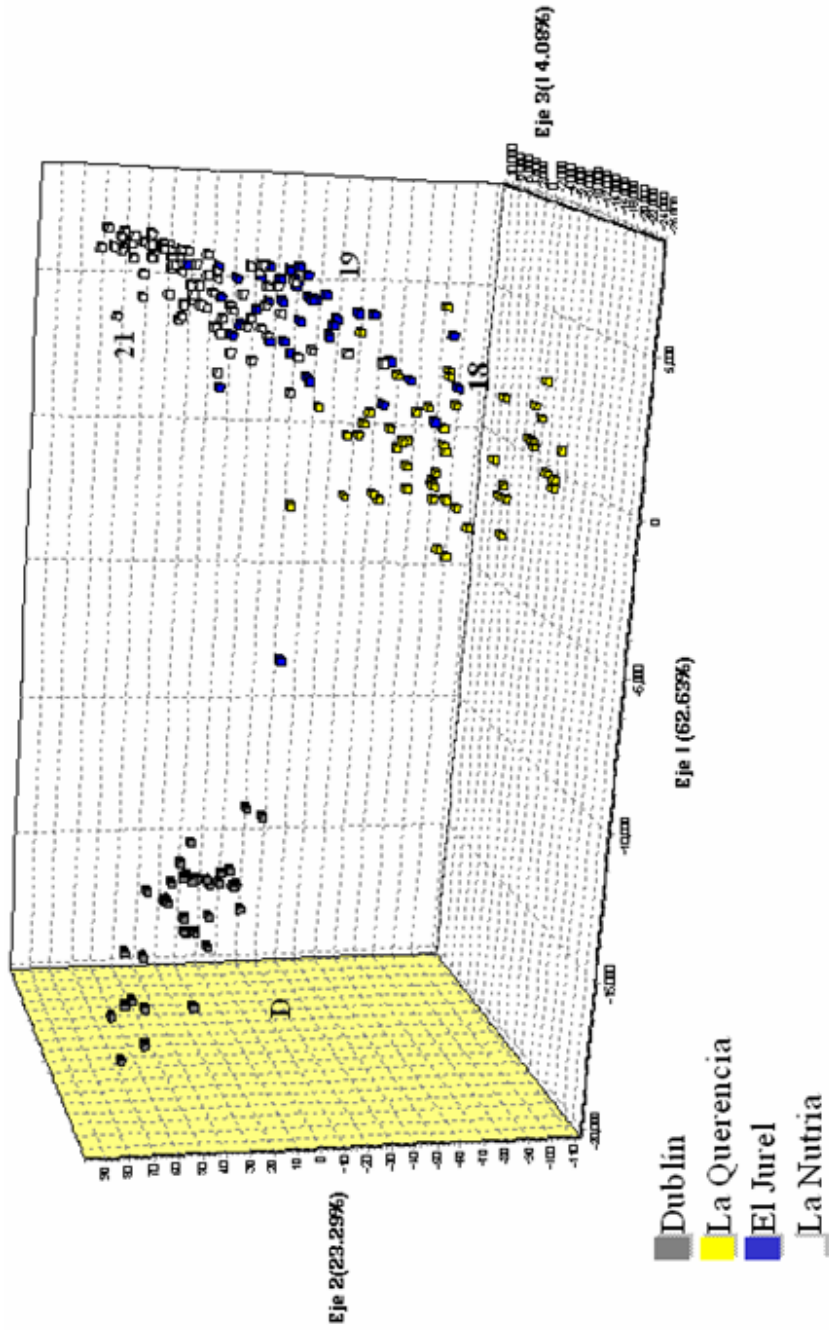


Figura 11. Gráfica tridimensional del AFC con una población de Dublin.  
D = Dublin, 18 = "La Querencia", 19 = "El Jurel", 20 = JR "La Nutria"

### 7.3.7. Distancias Genéticas

El dendrograma obtenido a partir del análisis de distancias genéticas de Nei 1972, mostró dos grupos principales; uno de estos grupos formó dos subgrupos; el primero de ellos con las poblaciones de JR “La Nutria” y de “El Jurel”, y el segundo representado por la población de “Dublín”. La población de “La Querencia” se mostró diferente a las otras tres poblaciones (figura 12).

El análisis de distancias genéticas entre las poblaciones estudiadas y la población de Dublín, indica que aquellas poblaciones en las que se ha usado material genético proveniente de Irlanda (JR “La Nutria” y “El Jurel”) se forman un solo grupo que se diferencia de la población en la que no existe influencia reportada de este material genético (“La Querencia”).

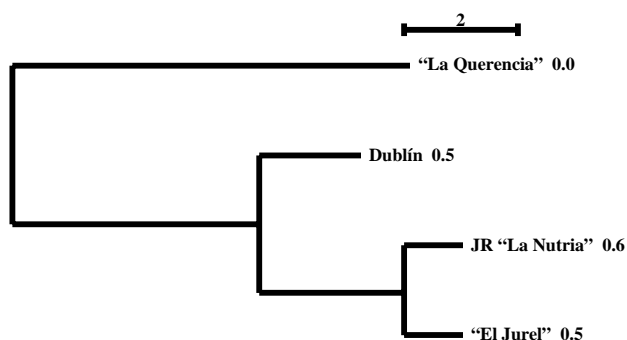


Figura 12. Dendrograma de distancias genéticas



## 8. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la variación genético-molecular en poblaciones de la raza Charolais de diferentes regiones agroecológicas de México: Utilizando marcadores moleculares del tipo I y II se obtuvieron datos genotípicos que permitieron definir el grado de variación genética en tres poblaciones representativas de dos regiones ganaderas (Árida y semiárida y Tropical húmeda), abarcando tres climas (subhúmedo, tropical y semiárido con microclima húmedo).

### ***Análisis de las poblaciones con marcadores del tipo I: Identificación de la mutación Q204X del gen MSTN***

El interés en el uso de los marcadores genéticos se ha concentrado en la precisión de la predicción del mérito genético de animales para características que son difíciles ó costosas de medir. Estas características incluyen la eficiencia alimenticia, la eficiencia reproductiva, la resistencia a enfermedades, y la composición de la canal (Thallman, 2004).

Dado que la detección de polimorfismos asociados a una característica económica, requiere del monitoreo de un gran número de individuos, es necesario el uso de técnicas a gran escala, las técnicas de detección basadas en fluorescencia, ofrecen ventajas sobre las técnicas tradicionales basadas en PCR (Secuenciación, PCR-RFLPs, SSCP) como son la rapidez y costo de la prueba [Wittwer *et al.*, 2003]. Una de estas pruebas es la discriminación alélica, técnica que permite hacer la detección de polimorfismos de un solo nucleótido SNPs, en veterinaria se ha utilizado para la detección de patógenos como virus, bacterias y hongos, o bien en estudios de expresión génica (factores del crecimiento, factores de transcripción). Además tiene aplicación para la detección de enfermedades genéticas y de la supervisión del éxito terapéutico [Leutenegger, 2001].

En la raza Charolais el alelo Q204X de MSTN representa un potencial marcador de selección para la calidad de carne (entre otras características productivas), sin embargo, existen pocos estudios poblacionales evaluando su frecuencia, en ellos la detección del alelo se ha basado en el uso de PCR-RFLP's [Antoniou y Grosz, 1999].

En este trabajo se implementó el uso de la discriminación alélica para evaluar poblacionalmente el alelo Q204X, la prueba ofrece las siguientes ventajas: Facilidad

técnica en su optimización e implementación, rapidez, reproducibilidad, alto rendimiento, (se pueden analizar hasta 96 muestras simultáneamente), no es requisito que se cuente con equipo especializado ya que puede identificarse por geles de agarosa.

En los resultados del estudio se encontró que del total de la población estudiada 13 individuos fueron portadores para el alelo Q204X del gen MSTN. Aunque en los tres hatos estudiados se encontraron diferencias en el número de portadores, es importante resaltar su presencia en cada población estudiada, ya que esto puede ser debido al origen del material genético, “La Querencia” exclusivamente de Francia, JR “La Nutria” tiene una población proveniente de Francia, Inglaterra e Irlanda, y “El Jurel” de México.

Dvorak *et al.*, 2002, reportaron una frecuencia de dicho alelo de 0.012 y 0.1, respectivamente en dos hatos de ganado Charolais de países de Europa del este; en otro estudio Dunner *et al.*, 2003, encuentran una frecuencia 0.6 de un haplotipo del gen miostatina que incluye la presencia de la alelo Q204X.

Otro aspecto que es importante resaltar es que la mayoría de los portadores del alelo Q204X fueron vacas y becerras, lo cual es deseable, ya que se ha demostrado que las hembras portadoras del alelo en forma heterocigótica son capaces de generar crías más pesadas sin problemas de distocia, evitando las pérdidas económicas que se generan por la presencia de este evento [Bellinge *et al.*, 2005].

En el hato de JR “La Nutria” se logró establecer la genealogía de algunos de los individuos portadores del alelo Q204X, esto fue posible debido a que cuentan con una ficha técnica de ganado en el cual están registrados el número privado y nombre del individuo, el nombre del padre y la madre, sexo y raza, origen (empadre o inseminación artificial), fecha y peso de nacimiento y de destete, índice BLUP. En este punto es relevante resaltar las ventajas de contar con registros genealógicos, ya que estos permiten establecer las relaciones filiales de los animales en la población, lo cual es útil para hacer apareamientos planeados que evitan la presencia homocigótica de un gen indeseable o para incrementar la frecuencia de genes deseables. En el caso de la raza Charolais, se puede mejorar las características de crecimiento y de canal al incrementar la frecuencia del alelo Q204X. Otra de las ventajas que se tiene al conocer el pedigrí de la población es que se pueden planear el grado de consanguinidad deseado dentro del hato sin el detrimento dado por una elevada consanguinidad.

Evaluar este gen en diferentes poblaciones permite inferir el nivel de manejo fenotípico de la doble musculatura desde su introducción a México y establecer las bases para el mejoramiento genético asistido aprovechando la ventaja que ofrece la presencia de la doble musculatura en esta raza. Cabe mencionar que este es el primer trabajo en el que se evalúa el gen MSTN en hatos mexicanos y se requiere continuar con esta línea de investigación adicionando datos productivos para establecer la asociación de este gen con características económicamente importantes, como la frecuencia de partos distócicos, pesos al nacimiento, destete y finalización, así como con las características en canal.

### ***Análisis de las poblaciones con marcadores del tipo II: Microsatélites***

El estudio de las poblaciones de Charolais con el marcador del gen MSTN, mostró que existen diferencias en la carga genética de las poblaciones, aunque MSTN esta directamente asociado a la expresión de la conformación por ser un solo gen no puede explicar la variabilidad genética total de las poblaciones. El uso de los microsatélites permite tener un panorama mas completo de la diversidad genética de las poblaciones, ya que están ubicados en diferentes cromosomas al lo largo del genoma bovino.

Se ha propuesto que el análisis de la diversidad genética del ganado doméstico permite seleccionar nuevas características en los animales, que den respuesta a los cambios medioambientales, a enfermedades y principalmente a las demandas del mercado [Notter, 1999; Maudet *et al.*, 2002; Jordana *et al.*, 2003].

En México, como en muchos otros países, los ganaderos, especialmente los productores de carne, han basado el mejoramiento de la productividad de sus hatos con el uso de razas especializadas, para lo cual es necesaria la importación de animales vivos o implementar técnicas reproductivas como la IA y TE. Si bien este último aspecto se ha reconocido como un factor importante que lleva a la pérdida de diversidad genética por el uso de solo unos cuantos sementales altamente productivos [San Primitivo, 2001]. Un punto rescatable de estas prácticas es que la diversidad de origen del material genético con el que se lleva a cabo la IA , sugieren que el mantenimiento de la diversidad genética podría estar sin riesgo, como ha sido observado para el caso de la cría de pequeños rumiantes en los Estados Unidos [Notter, 1999]. El esquema de Mejoramiento Genético de la raza

Charolais en México parecería caer dentro de este último punto, ya que la gran mayoría de los criadores de registro basan su mejoramiento genético en la importación de semen, embriones e incluso animales de diferentes países europeos, así como de Canadá y Estados Unidos, lo que hace suponer que cada hatos representa un caudal genético invaluable para la conservación de las características de la raza.

El análisis genético molecular con marcadores microsatélites de las tres poblaciones de Charolais estudiadas, mostró que existe una amplia variabilidad alélica en las poblaciones lo cual se ve reflejado en este estudio observándose un total de 132 alelos en 11 *loci*, para dar un promedio de 12 alelos por *locus*. El uso de microsatélites para estudios de diversidad se han enfocado principalmente al análisis entre razas de bovino, dentro de una zona geográfica en particular y dependiendo del número de *loci* analizados los promedios de alelos encontrados están entre 9.4 alelos [Maudet *et al.*, 2002] hasta 8.4 cuando se comparan poblaciones de diferentes regiones geográficas [MacHugh, 1998]. Por lo que se puede considerar que aun cuando entre las poblaciones el número de alelos por *locus* fue similar la población total muestra una diversidad alélica comparable con la obtenida entre razas de bovinos. Aunque los hatos estudiados son de diferentes regiones agroecológicas no se tienen datos productivos para asociar las diferencias genotípicas observadas con la productividad en un modelo donde se incluyan las variables de región ganadera.

La Heterocigocidad representa uno de los mejores estimadores de la diversidad genética, ya que se aplica a cualquier especie independientemente de su estructura reproductiva o genética, lo cual permite hacer comparaciones [Aranguren-Méndez *et al.*, 2005]. MacHugh y colaboradores en 1997, reportó valores de heterocigocidad para la raza Charolais de 0.525, en otro estudio de diversidad entre razas europeas incluyendo a la Charolais, se encontraron valores similares. El valor de  $H_E$  promedio en las tres poblaciones estudiadas fue de 0.5 por lo que la diversidad de la población Mexicana es en teoría similar a la encontrada en Europa.

Con excepción de los marcadores ETH10 y HEL5 en donde la selección y/o presencia de alelos nulos podrían explicar la desviación al equilibrio H-W. En los 9 *loci* restantes el efecto Wahlund, podría ser la causa más probable de la desviación, ya que en los tres hatos existen pocos sementales que son utilizados durante la reproducción, la cual

se lleva a cabo principalmente por IA. Existen reportes en donde el marcador ETH10 ha sido asociado con crecimiento y peso al nacer, respectivamente, por lo que representa un *locus* de interés ya que dentro de los principales criterios de selección de las poblaciones estudiadas están la ganancia de peso. [Li, 2002].

En los estudios de estructura poblacional, los análisis de  $F_{ST}$  son muy útiles para establecer los patrones de variación genética entre y dentro de poblaciones. Jordana *et al.*, 2003 realizaron un análisis de ocho razas Europeas de carne, sus resultados mostraron que entre razas existe un 6.8% de diferenciación genética, mientras que la mayor variación fue encontrada dentro de los individuos de cada población (93.2%), los autores señalan que estos valores de diferenciación entre razas de bovinos coinciden con los encontrados entre razas de otros mamíferos incluyendo al humano, caninos, ovinos, caprinos, ovinos, conejos y porcinos [Jordana *et al.*, 2003]. Es interesante observar que los valores de diferenciación obtenidos entre y dentro de las tres poblaciones de Charolais analizadas en el presente trabajo, son prácticamente iguales a los reportados entre razas estudiadas por Jordana y colaboradores (2003). MacHugh y colaboradores (1998), en un análisis de asignación de razas mediante microsatélites encontró que la raza Charolais junto con la Friesian, presentan una elevada heterogeneidad alélica, resultado de su reciente historia evolutiva además de su estructura genética. Según los autores, en los últimos 50 años estas razas han presentado una rápida expansión, mezclándose con pequeños rebaños de otras razas antes de que se llevaran a cabo los registros oficiales de los animales. Este patrón de estructuración puede ser aplicable a los resultados de diferenciación genética encontrados entre las poblaciones de ganado Charolais estudiadas, ya que aunque no esta debidamente documentado es bien sabido que entre las practicas de manejo, la cruce con otras razas principalmente Brahman se ha venido llevando a cabo, lo cual podría traer como consecuencia que nuevos alelos hayan y/o estén siendo introducidos en cada población. Aunado a esto los tres hatos presentan diferentes fuentes de material genético (principalmente importado) de otros países para mejorar y mantener el hato, por lo que los valores de diferenciación genética entre ellas podrían ser considerados como evidencia de una posible formación de líneas genéticas de la raza. Esta evidencia podría ser reforzada con los resultados de distancia genética realizados en los cuales se incluyó información genotípica de una población de Charolais proveniente de Dublín (Irlanda). Como se mostró

las poblaciones de JR “La Nutria” y “El Jurel” (figura 12), se agrupan con la población de Irlanda, lo cual parece concordar con el origen del material genético con el que se mejoran estos hatos, mientras que JR “La Nutria” recibe directamente semen de Irlanda entre otros, “El Jurel” introduce este material genético vía JR “La Nutria”, por otra parte el hato “La Querencia” se mantiene como un grupo independiente de las otras tres, ya que según su historial solo recibe material genético proveniente de Francia.

Aunque prometedores, estos resultados deben ser tomados como evidencias para el diseño de estudios de diversidad genética enfocados a la confirmación de la formación de líneas genéticas debido al origen del material genético, manejo reproductivo y/o criterio de selección, ya que el dendrograma de distancia en el que se fundamenta esta discusión, solo muestra las relaciones actuales entre los hatos estudiados y no la historia completa de las poblaciones del ganado Charolais en México.

## **9. CONCLUSIONES**

En México la raza Charolais se encuentra ampliamente distribuida en diferentes regiones agroecológicas. Además del ambiente en el que se desarrollan, un factor importante en el manejo aplicado a las poblaciones es el origen del material genético con el que estas se mejoran y/o conservan.

En este estudio se logró coleccionar y estudiar material genético de poblaciones de ganado Charolais que se desarrollan en diferentes regiones agroecológicas, el material seleccionado representa una fuente importante de información que permita en un futuro evaluar las interacciones genotipo-fenotipo y medio ambiente.

El análisis de la diversidad genético-molecular de las tres poblaciones seleccionadas, utilizando como marcador directo el alelo Q204X del gen MSTN indicó una diferencia en las frecuencias del alelo entre poblaciones, la cual se debe además de los criterios de selección aplicados a los hatos, a la fuente de material genético (principalmente Europeo).

El análisis de la variabilidad genética inter e intra poblaciones con marcadores del tipo II (STRs) indicó que existe una moderada pero significativa diferenciación entre las tres poblaciones estudiadas, la cual se explica principalmente por la variación intrapoblación. El grado de diferenciación genética entre las poblaciones está fuertemente influenciado por el origen del material genético con el que se mejoran los hatos proponiéndose la posible formación de líneas genéticas de la raza.

## **10. RECOMENDACIONES**

- Evaluar la presencia del alelo Q204X del gen MSTN en diferentes poblaciones de la raza Charolais e implementar estrategias experimentales enfocadas a evaluar su papel y uso potencial en la selección de animales con mayor mérito genético.

- Establecer un diseño experimental que permita probar la hipótesis de formación de líneas genéticas en las poblaciones de Charolais en México.



## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Andersson, L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews*. 2:130-138.
2. Antoniou, E., y M.D. Grosz. 1999. PCR based detection of bovine myostatin Q204x mutation. *Anim. Genet*. 30:231-232.
3. Applied Biosystems. Protocol. 2002. Assays-by-Design Service for SNP Assays.
4. Aranguren-Méndez, J. A, J. Jordana. 2001. Utilización de marcadores de ADN (microsatélites) en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción. Asociación Venezolana de Producción Animal. ([http://www.avpa.ula.ve/articulos\\_libres /AVPAconservacion.pdf](http://www.avpa.ula.ve/articulos_libres /AVPAconservacion.pdf)). Consultado el 8 de Noviembre de 2004.
5. Aranguren-Méndez, L. A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil, y J. Jordana. 2005. Los Microsatélites (STRs), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*. 13: 30-42.
6. Li, C., J. Basarab, W.M. Snelling, B. Benkel, B. Murdoch, y S.S. Moore. 2002. The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *J. Anim Sci*. 20:1187-1194.
7. Baumung, R., H. Simianer, and I. Hoffmann. 2004. Genetic diversity studies in farm animals-a survey. *J. Anim. Breed. Genet*. 121: 361-373.
8. Belkhir, K., Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste, and F. Retén. 2004. Genetix Version 4.02. Logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, France.

9. Bellinge, R. H. S., D. A. Liberles, S. P. A. Iaschi, P. A. O'Brien, and G. K. Tay. 2005. Myostatin and its implications on animal breeding: a review. *Animal Genetics*. 36:1.
10. Biodiversidad. ([www.biodiversidadecuador.com/biodiversidad/defin23.shtml](http://www.biodiversidadecuador.com/biodiversidad/defin23.shtml)). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
11. Biodiversidad animal. Pérdida de Biodiversidad en la Ganadería. ([www.lead.virtualcenter.org/es/dec/toolbox/Indust/LossAgbi.htm](http://www.lead.virtualcenter.org/es/dec/toolbox/Indust/LossAgbi.htm) - 16k ). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
12. Blott, S., J. Williams, and C. Haley. 1996-1997 Annual Report. Genetic diversity among European cattle breeds. (consulta en línea: <http://epublications.roslin.ac.uk/9697annrep/diversity.pdf>). Consultado el 21 de Junio de 2004.
13. Buchanan, D. S., S. L. Dolezal. 1999. Breeds of Cattle. *In: The Genetics of Cattle* . CAB International. OK 74078, USA. p. 167.
14. Butler, J. M. 2001. DNA Biology Review. *In: Forensic DNA Typing. Biology & Technology venid STR Markers*. Academic Press, A Harcourt Science and Technology Company. London. P.18.
15. Cañón, J., P. Alexandrino, I. Bessa, C. Carleos, Y. Carretero, S. Dunner, N. Ferran, D. García, J. Jordana, D. Laloe, A. Pereira, A. Sanchez, y K. Moazami-Goudarzi. 2001. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genet. Sel. Evol.* 33:311-332.
16. Casas, E., J. Keele, S. Shackelford, M. Koohmaraie, T. Sostegard, T. P. Smith, S. M. Kappes, y R. T. Stone. 1998. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. *J. Sci.* 76: 468-473.

17. Cattle diversity database. Selected DNA markers. [www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/accessdb.htm](http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/accessdb.htm)). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
18. Charolais France. 2003. (<http://www.elevage-francais.com>). Consultado el 30 de marzo de 2003.
19. Charolais. Asociación Mexicana de la Raza Charolais. (<http://www.charolais.org.mx>). Consultado el 30 de marzo de 2006.
20. Cornell University. 2004. Medidas de la diversidad genética . (<http://www.ipgri.cgiar.org/.../Unit10-1/MolMarkerses/PDF/VOL2/III.%20Medida%20de%20la%20diversidad%20genética.pdf>). Consultado el 19 de Abril de 2006.
21. Dunner, S., M. E. Miranda, Y. Amigues, J. Cañón, M. Georges, R. Hanset, J. Williams, and F. Ménessier. 2003. Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35:103-118.
22. Dvorak, J., A. Filistowicz, D. Hruska, P. Horak, I. Vrtkova, A. Kubek, T. Szulc, and S. Pomichal. 2002. The polymorphism of MSTN, PRNP and CSN3 genes in Charolais cattle. *Anim. Sci.* 20:19-23.
23. De La Rosa, R.X.F. 2003. Evaluación de regiones asociadas a ganancia de peso en el genoma de individuos de la raza beefmaster. Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica. Centro de Biotecnología Geonómica. Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas. México. 70 p.
24. El ganado Charolais. (<http://www.ganaderia.com.mx/razas/raza.php?raza=charolais>) Consultado el 30 de Marzo de 2006.
25. Fries R., y A. Ruvinski. 1999. Genetic aspects of domestication. *The Genetic of Cattle*.

CABI.(<http://www.cabipublishing.org/Bookshop/Readingroom/0851992587.aspff>).

Consultado el 25 de Junio de 2004.

26. Giovambattista, G., M. V. Ripoli, J. P. Lirón, F. N. Dulout, y P. Peral-García. 2002. Aspectos genéticos de la doble musculatura en bovinos. ([http://produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/seleccion\\_y\\_cruzamientos/14-doble\\_musculatura\\_genetica.htm](http://produccionbovina.com/informacion_tecnica/seleccion_y_cruzamientos/14-doble_musculatura_genetica.htm)). Consultado el 30 de Junio de 2004.
27. Glaubitz, J.C., P. Garnier-Gere, y G. F. Moran. 1999. Assessment of options and research priorities for the practical, sensitive and cost effective monitoring of Montreal Regional Indicator 1.3.a – ‘The amount of genetic diversity within and between populations of representative forest dwelling species’. Forest and Wood Products Research and Development Corporation.
28. Grobet, L., D. Poncelete, L. J. Royo, B. Pirottin, C. Michaux, F. Ménissier, M. Zanotti, S. Dunner, y M. Georges. 1998. Molecular definition o fan allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mammalian Genome*. 9:210-213.
29. Grosz, M.D., M.D. MacNeil. 2001. Putative quantitative trait locus affecting birth weight on bovine chromosome 2. *J Anim, Sci*; 79:68-72.
30. Hall S. J.G., D.G. Bradley.1995. Conserving livestock breed biodiversity. *TREE*. 10:267-270.
31. Heather, A., M. A. Della-Fera, y C. A. Baile. 2001. Review of myostatin history, physiology and applications. *Int. Arch. Biosci*. 1014-1022.
32. Jordana, J., P. Alexandrino, A. Beja-Pereira, I. Bessa, J. Cañón, Y. Carretero, S. Dunner, D. Laloe, K. Moazami-Goudarzi, A. Sanchez, and N. Ferrand. 2003. Genetic

- structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative  $F$ -statistics análisis. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 73-87.
33. Kocamis, H., J. Killefer. 2002. Myostatin expression and possible functions in animal muscle growth. *Domestic Animal Endocrinology.* 23:447-454.
34. Leutenegger, C. M. 2001. The real-time TaqMan PCR an applications in veterinary medicine. *Vet. Sci. Tom.* 1:1-15. (<http://www.vetmed.ucdavis.edu/vme/taqmanservice/pdf/TaqManReviewVST2001.pdf>). Consultado el 26 de Abril de 2006.
35. Livak, K. J. 1999 Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 14:143-149.
36. Loftus, R., Machugh D., Bradley D., Sharp P., Cunningham E. 1992. Mitochondrial DNA and inferred relationships between European, African and Asian cattle. En: *Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle. A thesis submitted to the University of Dublin for the degree of Doctor of Philosophy.* MacHugh, D. 1996. Department of Genetics, Trinity College, University of Dublin. 258 p.
37. Loftus, R., Machugh D., Bradley D., Sharp P. y Cunningham E. 1994a. Evidence for two independent domestications of cattle. En: *Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle. A thesis submitted to the University of Dublin for the degree of Doctor of Philosophy.* MacHugh, D. 1996. Department of Genetics, Trinity College, University of Dublin. 258 p.
38. Loftus, R., Machugh D., Ngere L., Balain D., Badi A., Bradley D. y Cunningham E. 1994b. Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. En: *Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle. A thesis submitted to the University of Dublin for the degree of Doctor of Philosophy.* MacHugh, D. 1996. Department of Genetics, Trinity College, University of Dublin. 258 p.

39. López, M.C.A. 2004. Evaluación de la Diversidad Genética de razas de ovinos en México mediante el uso de marcadores microsatélites. Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica. Centro de Biotecnología Geonómica. Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas. México. 80 p.
40. MacHugh, D. E. 1996. Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle. A thesis submitted to the University of Dublin for the degree of Doctor of Philosophy. Department of Genetics, Trinity College, University of Dublin. 258 p.
41. MacHugh, D. E., M. D. Shriver, R. T. Loftus, P. Cunningham, and D. G. Bradley. 1997. Microsatellite DNA Variation and the Evolution, Domestication and Phylogeography of Taurine and Zebu Cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 146:1071-1086.
42. MacHugh, D. E., R. T. loftus, P. Cunningham, y D. G. Bradley. 1998. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Anim. Genet.* 29:333-340.
43. Marchall, T. (1998-2001). CERVUS versión 2.0. (<http://helios.bto.ed.ac.uk/evolgen/cervus/cervus.html>). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
44. Márquez, E. 2000. Variabilidad Poblacional (III).Variación fenotípica y evolución. ([file:///A:/Variabilidad%20Poblacional%20\(III\).htm](file:///A:/Variabilidad%20Poblacional%20(III).htm)). Consultado el 4 de Junio de 2004.
45. Maudet, C., G. Luikart, and P. Taberlet. 2002. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *J. Anim. Sci.* 80:942-950.
46. McPherson, M., S. Møller. 2000. PCR The basics from background to bench. Springer-Verlag New Cork.

47. Notter, D. R. 1999. The Importance of Genetic Diversity in Livestock Populations of the Future. *J. Anim. Sci.* 77:61-69.
48. O'Brien, S. J., Menotti, R. M., Murphy, W. J., Nash, W. G., Wienberg, J., Stanyon, R., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Womack, J. E. and Marshall, G. J. A. 1999. The Promise of Comparative Genomics in Mammals. *Sci.* 286:458-481.
49. Perales, F.L.E. 2003. Caracterización molecular del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) de granjas de cultivo del Estado de Tamaulipas. Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología Genómica. Centro de Biotecnología Geonómica. Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas. México. 67 p.
50. Rancho "El Salitre". Integradora Charolais. ([http://www.integradoracharolais.com.mx/sal\\_historia.htm](http://www.integradoracharolais.com.mx/sal_historia.htm)). Consultado el 20 de Marzo de 2006.
51. Rancho JR "La Nutria". ([www.charolais.com.mx / - 7k](http://www.charolais.com.mx/-7k)). Consultado el 20 de Marzo de 2006.
52. Revista ganadera. La Raza Charolais. (<http://www.geocities.com/WallStreet/Exchange/8492/charolais>). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
53. Rodero, E., M. Herrera. 2000. El concepto de raza, un enfoque epistemológico. *Arch. Zootec.* 49: 5-16.
54. Salazar, M.E.L. 2001. Evaluación de nueve marcadores microsatélites para la genotipificación de ganado bovino. Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología Geonómica. Centro de Biotecnología Geonómica. Instituto Politécnico Nacional. Reynosa, Tamaulipas. México. 58 p.

55. Salazar, M.E.L., P.M. González, G. A. Del Bosque, P.D. Reséndez, S.H.A. Barrera, y R.A.M. Sífuentes. 2004. Evaluación de microsatélites para la verificación de paternidad de las razas Beefmaster y Charolais en el noreste de México. *Téc. Pecu. Méx.* 42(3):429-435.
56. Sambrook et al., 1989. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Second Edition.* Cold Spring Harbor, NY.
57. San Primitivo, T.F. 2001. La mejora genética animal en la segunda mitad del siglo XX. *Arch. Zootec.* 50:517-546.
58. Schlötterer C., B. Harr, 2001. *Encyclopedia of Life Sciences Nature Publishing* (<http://www.Group/www.els.net>). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
59. Schneider S., Roessli D. And Excoffier L. (2000). *Arlequin version 2000: Software for population genetic data analysis.* Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
60. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2001 a). Programa Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios PNRGP. <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/conargen>). Consultado el 6 de Febrero de 2005.
61. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2001 b). Informe sobre la situación de los Recursos Genéticos Pecuarios (RGP). [www.conargen.org.mx](http://www.conargen.org.mx), [www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/infofao.pdf). Consultado el 6 de Febrero de 2005.
62. Secretaría de Economía. (<http://www.siem.gob.mx/portalsiem/Mapa/xmun.asp?edo=19>). Consultado el 10 de Febrero de 2005.



63. Selected DNA Markers. CaDBase Genetic diversity in Cattle. Roslin Institute 2002. (<http://www.ri.bbsrc.ac.uk/library/research/cloning/nt-use2.html>) consultado el 24 de Noviembre de 2005.
64. Simons, D.L. 1984. Conservation of animal genetic resources. A review. *Livest. Prod. Sci.*11, 23-36.
65. Singleton, M. E. 1964. *The Charolais Breed*, by Col. Dan Breen.
66. Stockburger, E.M., R.D. Green, W.O. Wood, T. Holm, M.D. McNeil, D.W. Shafer, R.S. Yemm, y R.J. Breg. 1999. Determination of the stringency of DNA microsatellite marker genotypes for use in individual animal identification. Beef Program Report. Colorado State University.
67. Suárez, D. H. y T. Q. López. *La Ganadería Bovina Productora de Carne en México. Situación Actual*. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. (<http://agrinet.tamu.edu/trade/papers/hermilo.pdf>). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
68. Thallman, R. M. 2004. DNA testing and marker assisted selection. *Proc. Beff Improv. Fed.* 36<sup>th</sup> Ann Res Symp. Ann Meet May 25-28. Sioux Falls. DS, USA Pp. 20-25.
69. United States Department of Agricultura. Agricultural Research Service. *Cattle genome mapping projet*. (<http://www.marc.usda.gov/genome/cattle/cattle.html>). Consultado el 30 de Marzo de 2006.
70. Valadez-Moctezuma, E. 2004. Algunas aplicaciones de técnicas moleculares en agronomía. I Congreso Internacional de Agrobiotecnología. Facultad de Agronomía. UANL. Pp. 32-41.

71. Volk, E. 1997. The Myostatin Gene. (<http://www.mesomorphosis.com/articles/volk/myostatin.htm>). Consultado el 10 de Junio de 2004.
72. Wittwer, C. T., G.H. Reed, C. N. Gundry, J.G. Vandersteen, y R.J. Pryor. 2003. *Clinical Chemistry*. 49:6, 853-860.
73. Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* **28**: 114-138. En: Assessment of options and research priorities for the practical, sensitive and cost effective monitoring of Montreal Regional Indicator 1.3.a – ‘The amount of genetic diversity within and between populations of representative forest dwelling species’. Glaubitz, J.C., P. Garnier-Gere, y G. F. Moran. 1999. Forest and Wood Products Research and Development Corporation.
74. Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. En: Assessment of options and research priorities for the practical, sensitive and cost effective monitoring of Montreal Regional Indicator 1.3.a – ‘The amount of genetic diversity within and between populations of representative forest dwelling species’. Glaubitz, J.C., P. Garnier-Gere, y G. F. Moran. 1999. Forest and Wood Products Research and Development Corporation.

## 12. GLOSARIO

**Adaptación:** Conjunto de características estructurales, fisiológicas o de comportamiento que incrementan la probabilidad de que un individuo sobreviva o deje más progenie en un ambiente particular.

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico; ácido nucleico del material genético.

**ADN microsatélite:** Tipo de ADN repetitivo, que consiste en repeticiones muy cortas, tales como dinucleótidos, trinucleótidos o tetranucleótidos. Denominado también repeticiones de secuencia simple (SSR).

**Agrobiodiversidad:** La diversidad agrícola o agrodiversidad es un concepto que reúne lo relativo a la diversidad biológica para la producción agrícola y comprende los recursos genéticos de plantas y animales, los organismos del suelo, los insectos y otros organismos en ecosistemas manejados o agroecosistemas, y también los elementos de ecosistemas naturales para la producción de alimentos.

**Alelo:** Una de las formas variantes de un gen en un locus o de un marcador particular en un cromosoma. Diferentes alelos de un gen producen variaciones en las características hereditarias tales como el color del cabello o el tipo de sangre.

**Alelos privados:** Alelos exclusivos de una población en particular.

**AMOVA:** Análisis de varianza molecular. Es un método que sirve para estudiar la variación molecular dentro de una especie. Se basa en un modelo jerárquico o anidado. Puede contener diferentes suposiciones evolutivas sin modificar la estructura básica del análisis. La hipótesis utiliza métodos de permutación que no requieren la suposición de una distribución normal.

**Biodiversidad:** Se refiere a la variabilidad de la vida; abarca tres niveles de expresión:

ecosistemas, especies y genes. Esta diversidad se expresa en los diferentes tipos de ecosistemas, el número de especies, el cambio de riqueza de especies de una región a otra, el número de especies endémicas, las subespecies y variedades o razas de una misma especie (Conabio 1998).

**Conservación:** El manejo del uso de la biosfera para que pueda producir el mayor beneficio sostenible a las generaciones actuales mientras se conserva su potencial para satisfacer las necesidades y aspiraciones de las generaciones futuras. En estos términos, la conservación es positiva; abarca la preservación, el mantenimiento, el uso sostenible, la restauración y el mejoramiento del ambiente natural.

**Cromosoma:** Es el resultado del empaquetamiento del ADN y las proteínas previo a la división celular para su segregación posterior en las células hijas. Los cromosomas se encuentran en el núcleo de las células y diferentes especies tienen diferente número y morfología de cromosomas. Cada uno de los progenitores aporta un cromosoma a cada par, de manera que los hijos reciben la mitad de los cromosomas de la madre y la mitad del padre.

**Deriva genética:** Cambio impredecible en la frecuencia alélica que se produce en poblaciones pequeñas.

**Diploide:** El número de cromosomas en la mayoría de las células, excepto en los gametos o células germinales. En los humanos el número diploide es 46. El término diploide describe el número completo de copias del genoma en una célula determinada. Di significa dos y ploid se refiere al número de copias. Así, la inmensa mayoría de las células normales contienen dos copias del genoma, cada una proveniente de cada progenitor y se conocen como células diploides.

**Distancia genética:** El grado de afinidad entre subgrupos o poblaciones estimado mediante diversos estadísticos.

**Diversidad biológica:** La totalidad de genes, especies y ecosistemas en una región dada, sea ésta un microhábitat o la biosfera. Se llama también biodiversidad.

**Diversidad de especies:** Es una función de la distribución y abundancia de las especies. Su significado es similar a 'riqueza de especies'. En la literatura más técnica, incluye consideraciones sobre la uniformidad de la abundancia de especies. Según la definición más técnica, se dice que un ecosistema es más diverso si las especies presentes tienen poblaciones de igual tamaño y que es menos diverso si muchas especies son raras y algunas son muy comunes.

**Diversidad genética:** Es la variación en la composición genética de los individuos dentro de la especie o entre especies diferentes; es la variación genética hereditaria dentro de las poblaciones y entre ellas.

**Domesticación:** Evolución de las plantas o los animales, de manera natural o por selección artificial, hacia las formas más útiles para el hombre.

**Dominante:** Es la condición por la cual un miembro de un par alélico se manifiesta en el fenotipo de un individuo excluyendo la expresión del otro alelo.

**Efecto Wahlund:** Consiste en la pérdida de heterocigosis por actuación de deriva, hay un número mayor de homocigotos y menor de heterocigotos respecto de lo esperado por H-W.

**Endogamia:** Apareamiento entre individuos de un mismo linaje.

**Equilibrio de Hardy-Weinberg:** La ley de Hardy-Weinberg representa a una población grande de individuos diploides, con reproducción sexual aleatoria, sin selección, mutación y migración, las frecuencias génicas y genotípicas permanecen constantes de generación en generación y, además, existe una relación simple entre ambas. Así, una población con frecuencias génicas y genotípicas constantes, se dice que está en **equilibrio H-W**.

**Fenotipo:** Apariencia física de un organismo, producto de la interacción de su genotipo y el ambiente en el que se encuentra.

**$F_{IS}$ :** Coeficiente de consanguinidad, mide la reducción de la heterocigocidad de un individuo debido a los apareamientos no al azar dentro de una subpoblación. Se refiere a la consanguinidad individual (I), en relación a la subpoblación (S) a la cual pertenece. Mide la deficiencia o el exceso de heterocigotos promedio en cada población.

**$F_{IT}$ :** Coeficiente de consanguinidad total de un individuo, incluye una contribución debido a un apareamiento no al azar dentro de las subpoblaciones ( $F_{IS}$ ) y otra contribución debido a la subdivisión en sí misma ( $F_{ST}$ ), mide la reducción en heterocigocidad de un individuo en relación a la población total. Se refiere a la consanguinidad individual (I), en relación a la población total (T). Mide la deficiencia o el exceso de heterocigotos promedio en un grupo de Poblaciones.

**$F_{ST}$ :** Índice de fijación, mide los efectos de la subdivisión de la población. Se refiere a la consanguinidad en las subpoblaciones (S), en relación a la población total (T), de la cual ella es parte. Mide el grado de diferenciación génica entre las poblaciones, en función de las frecuencias alélicas.

**Gen:** La unidad física y funcional de la herencia, que se pasa de padres a hijos. Los genes están compuestos por ADN y la mayoría de ellos contiene la información para elaborar una proteína específica.

**Genética de poblaciones:** El estudio cuantitativo y la medida de las poblaciones en términos estadísticos; por ejemplo, el estudio de los fenómenos genéticos en función de parámetros estadísticos estándar como cuadros y distribuciones de frecuencia, medias, varianzas y desviaciones estándar.

**Genoma:** Todo el ADN contenido en un organismo o célula, que incluye tanto los cromosomas dentro del núcleo como el ADN en las mitocondrias.

**Genotipo:** La identidad genética de un individuo que no se muestra como características externas.

**$G_{ST}$  Coeficiente de diferenciación génica:** Mide la diferenciación o estructura de la población. Mide la proporción de diversidad génica que está distribuida entre las poblaciones.

**Haploide:** Una dotación sencilla de cromosomas (la mitad de la serie completa de material genético) presente en cada óvulo y célula espermática de los animales. (del griego: Palos, simple).

**Haplotipo:** Constitución alélica específica de cierto número de *loci* en un bloque de ligamiento definido.

**Heterocigidad esperada  $H_E$ :** Es la frecuencia relativa de individuos heterocigotos observados en la muestra para cualquiera de los *loci*.

**Heterocigidad observada  $H_O$ :** Es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes.

**Heterocigoto:** Que posee dos formas diferentes de un gen en particular; cada una heredada de cada uno de los progenitores. Un individuo diploide que tiene diferentes alelos en uno o varios loci genéticos. (del griego: heteros, igual).

**Homocigoto:** Que posee dos formas idénticas de un gen específico heredadas de cada uno de los progenitores.

**Locus:** El lugar del cromosoma donde está localizado un gen específico, es la dirección física del gen. El plural es "*loci*".

**Marcador microsatélite:** Un tipo de secuencia simple de longitud polimórfica de unidades di, tri o tetranucleótidos repetidas en tándem. También llamadas repeticiones cortas en tándem (STR por sus siglas en inglés).

**Mutación:** Cambio en el ADN que modifica su información génica. Puede darse por inserción, sustitución o pérdida de nucleótidos. Comúnmente se emplea también para designar un cambio en el número o en la disposición de los cromosomas.

**Nucleótido:** Monómero de ácidos nucleicos, cada uno con tres partes: un azúcar (ribosa o desoxirribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada; el fosfato está unido al azúcar y al carbono 5' y a la base del carbono 1'.

**Población:** Biológicamente hablando, debe llenar las siguientes características: a) ser un grupo de organismos de una especie, b) que puedan intercambiar genes, c) que interactúen, d) que se desarrollen bajo condiciones ambientales similares, e) que se encuentren bajo la influencia de sus propios efectos sobre el ambiente y la de sus vecinos y f) cuya selección natural está afectada por sus atributos demográficos y por el medio físico y biótico.

**Polimorfismo:** Es la variación existente entre y dentro de los individuos de una población. Desde el punto de vista molecular, esta variación se denomina polimorfismo y deriva de cambios espontáneos en el ADN que van desde la sustitución, delección o inserción de un solo nucleótido (SNPs), hasta mutaciones que involucran mayores números de sitios nucleotídicos (STRs).

**Razas:** son poblaciones que se distinguen por un conjunto de caracteres visibles exteriormente, que están determinados genéticamente y que se han diferenciado de otras de la misma especie a lo largo del proceso histórico, teniendo en cuenta que se han originado y localizado en un área determinada con un ambiente común.

**Taq ADN polimerasa:** Enzima termoestable derivada de la bacteria *Thermus aquaticus* que cataliza la síntesis de ADN *in vitro*.



**TaqMan:** Proceso basado en el principio de PacMan - un juego de la computadora introducido hace más de veinte años. PacMan un carácter ficticio, es movido con la ayuda de una palanca de mando a través de un laberinto que contiene millares de fantasmas azules minúsculos que al ser capturados agregan puntos a la cuenta del jugador. La sonda de TaqMan sigue el mismo principio. Continuando la analogía, PacMan es representado por la enzima Taq DNA polimerasa. La sonda interna de TaqMan tiene dos etiquetas fluorescentes y es análoga al ' blanco ' del PacMan, así la sonda TaqMan ' es capturada ' por la Taq DNA polimerasa, causando la fluorescencia de la sonda.

**Taxa:** Término usado en la terminología de la clasificación biológica para referirse a un grupo de organismos de cualquier rango taxonómico.