

**EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS DE NUCLEOTIDO SIMPLE ASOCIADO AL
CRECIMIENTO MUSCULAR EN OVINOS CRIOLLOS COLOMBIANOS**

SARMIENTO CÁRDENAS PAUL NICOLÁS

TRABAJO DE GRADO

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

ZOOTECNISTA



**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA ACADEMICO:
ZOOTECNIA
FUSAGASUGA, CUNDINAMARCA, COLOMBIA**

2017

**EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS DE NUCLEOTIDO SIMPLE ASOCIADO AL
CRECIMIENTO MUSCULAR EN OVINOS CRIOLLOS COLOMBIANOS**

SARMIENTO CÁRDENAS PAUL NICOLÁS

DIRECTORA

CASTRO MOLINA SUSAN LORENA

Bact. MSc. Microbiología

Línea de Investigación:
Genética y Mejoramiento Animal

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial para obtener el grado de:

ZOOTECNISTA

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS.
FUSAGASUGA, CUNDINAMARCA, COLOMBIA.**

2017

NOTA DE ACEPTACIÓN

FIRMA EVALUADORES

Nombre.

Nombre.

Dedicatoria

A mi familia que me apoyo y acompaño durante todo este tiempo de formación, quienes me vieron crecer cada día, a mi mamá Beatriz Cárdenas, la luz de mi vida, quien siempre me apoyo en cada decisión, gracias por ser la mujer que eres, por enseñarme a que se puede ser fuerte y a sonreír a pesar de las adversidades, También por siempre recordarme que las cosas que haces con amor y pasión son los grandes logros que se van a conseguir. Mi papá José A. Sarmiento quien siempre me enseñó que todo lo que uno se propone lo puede lograr, solo si se trabaja y si se esfuerzas por conseguirlo, pero también a que todo llega en su debido momento, pero para ello tienes que idealizarte y proyectarte. Mis hermanos y sobrinos quienes siempre estarán para apoyarme en cada decisión que tome, porque son mis confidentes, porque con ustedes se pueden hablar de sueños y metas y sé que pondrán su grano de arena para que cada uno lo pueda logra.

Las personas programadas van buscando siempre hacer mejor las cosas.
Van ansiosos de victorias, de conquistas, por eso sufren tanto cuando no alcanzan las metas que su exigencia les impone

Anthony de Mello.

Cuando creas que todo está perdido; no olvides que aún te queda el futuro, tu cerebro, tu voluntad y dos manos para cambiar tu destino.

Anónimo

Una persona, un papel, una promesa



Agradecimientos

A Dios por darme todas las bendiciones que he tenido en el trayecto de mi vida, por permitirme cumplir esta meta y por poder llegar hasta donde he llegado con todas las herramientas que me ha brindado para lograrlo, porque en el tiempo de Dios todo es perfecto.

Agradezco infinitamente a mi directora Susan Lorena Castro, quien me apoyo y fue parte fundamental en mi desarrollo profesional, de quien aprendí a que todo esfuerzo tiene una gran recompensa, gracias por creer en mí y en mis capacidades, por impulsarme a hacer siempre mejor las cosas y sobre todo por brindarme esta gran oportunidad de aprendizaje, gracias por ser un modelo de inspiración en la investigación y futura formación profesional, gracias porque sé que Dios ha puesto en mi camino grandes personas con tu, que me han permitido aspirar a un mejor futuro, sin importar cuan complicado y grande sea, porque no se es lo suficiente pequeño o joven para soñar y aspirar a algo grande.

Al Dr. Manuel Fernando Ariza por abrirme las puertas de su laboratorio y por el interés que tuvo en el desarrollo de mi trabajo, por atender y responder mis dudas.

A Yurany Ortiz, Gracias mi profe linda por todo el apoyo, por los consejos, regaños, risas y aprendizajes que me has brindado, por la confianza que me has dado y sobre todo gracias por brindarme tu amistad, por también por enseñarme que no hay cosa que no se pueda lograr si te lo propones y que no importa cuántas veces te caigas siempre habrá un motivo para levantarse y seguir luchando. Pdta. No odie la biología molecular contigo, al contrario hoy en día la amo más porque me demuestras que haces las cosas con amor y pasión.

A Lía, querida amiga gracias por escucharme siempre que lo necesite, por acompañarme en mi proceso de formación en el laboratorio, por compartir esas largas tardes en el laboratorio, por siempre enseñarme a luchar porque siempre se sueña y se aspira a un mejor futuro, porque hay que arriesgarse a vivir y a disfrutar cada instante, y por las futuras oportunidades que me estas brindando para verme crecer profesionalmente, futura líder espiritual.

A mis amigos de toda la vida, Alison Arias, Sharon Arias, Camilo Álvarez, Manuel Mora, Alejandra Cifuentes, Daison Álvarez, gracias por estar ahí cuando los necesitaba, porque sé que siente cada triunfo de cada uno de nosotros como si fuese propio, recordando que un amigo siempre será un hermano, gracias por hacer parte de mi vida y acompañarme en mis sueños propuestos. Y a Miguel Cifuentes, amigo que aunque ya no estés con nosotros siempre estarás en nuestros pensamientos y oraciones, serás un grato recuerdo de la infancia y juventud...

A Juan Pablo y Edna por apoyarme y por su gran colaboración en el desarrollo de mi trabajo de grado, porque sin ustedes los días en el laboratorio no hubiesen sido lo mismo.

A mis amigos y amigas de universidad, futuras colegas, Mafe y Joha con quienes siempre luchamos por hacer mejor las cosas, por siempre ser una voz de aliento cuando alguno lo necesito porque a pesar de las adversidades se superaron y nunca faltaron las risas y aunque peleamos forjamos una gran amistad, a mis otros compañeros y amigos, Paty, Jhofan, Carolina S, Sharon A, Heidi C, Nicole M, entre otros muchos, por estar ahí, para reír, estudiar y sobre todo para disfrutar un poco de esto que llamamos vida.

Resumen.

La producción ovina y caprina en Colombia actualmente ha tenido un crecimiento productivo regional y cultural, dado de manera artesanal (esto debido a que no son explotaciones que cuenten con un alto nivel tecnológico), y aunque en gran parte la producción de estos animales se ha basado en el uso de razas puras, otra parte se ha enfocado en la implementación de animales criollos y de cruzamientos entre estas, para así, poder fijar ciertas características que son deseables en la población productiva. Tal y como lo es el crecimiento muscular, entre las cuales se postularon el gen de la hormona del crecimiento GH y el gen de la hormona del factor insulínico de crecimiento (IGF-I e IGF-II), donde el principal objetivo fue identificar las variaciones alélicas en genes relacionados a características de crecimiento muscular, a partir de una población de 100 ovinos criollos colombianos, pertenecientes a Córdoba, piedemonte llanero y valles interandinos.

Para ello se determinaron las variaciones alélicas, para GH, como alelos A y B las cuales fueron 58.9 % y 41.41 % respectivamente, las frecuencias genotípicas, un 64,6 % de heterocigosidad (AB), el 26,3% homocigotos para el genotipo AA, y para BB se determinó el 9,1%; IGF-1 en sus respectivos (IGFov1, IGFov2, IGFov3) se obtuvieron para la frecuencia alélica los siguientes valores 36.87%, 53.76%, 56,81% respectivo para el alelo A, mientras que para el alelo B, se obtuvieron 63.13%, 46.24%, 43,18%. Se calculó el Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), heterocigosidad esperada (He) y heterocigosidad observada (Ho) mediante el índice de fijación alélica utilizando el software Gen Alex. Se pudo determinar la presencia de polimorfismos para cada uno de los marcadores, mediante la técnica PCR-SSCP, logrando identificar genotipos AA, AB y BB, a partir de la estandarización de cada una de las técnicas utilizadas dentro de la metodología.

Palabras Claves: Genotipo, GH, IGF-I e IGF-II, SNP's, Variación alélica

Abstract.

The sheep and goat production in Colombia currently has a regional and cultural productive growth, given that it is a technological factor, and although in a large part the production of these animals has been based on the use of pure breeds, another part has focused on the implementation of Creole animals and crosses between them, in order to be able to establish some characteristics that are desirable in the productive population. As it is the muscular growth, between the things they are postponed in the gene of the hormone of the growth GH and the gene of the hormone of the insulinic factor of growth (IGF-I and IGF-II), where the main objective was identified the allelic variations in genes related to the characteristics of muscular growth, from 100 inhabitants of Colombian Creole sheep, belonging to Córdoba, Piedmont foothills and inter-Andean valleys. For this, the allelic variations were determined, for GH, as alleles A and B which were 58.9% and 41.41% respectively, the genotypic frequencies, 64.6% heterozygosity (AB), 26.3% homozygous for the AA genotype, and for BB was determined to be 9.1%; IGF-1 in their respective (IGFov1, IGFov2, IGFov3) was obtained for the allelic frequency the values 36.87%, 53.76%, 56.81% respectively for the allele A, while for the allele B, it was obtained 63.13%, 46.24%, 43.18%. The Hardy-Weinberg Equilibrium (EHW), expected heterozygosity (H_e) and observed heterozygosity (H_o) were calculated using the allelic binding index using the Gen Alex software. It was possible to determine the presence of polymorphisms for each of the markers, by means of the PCR-SSCP, being able to identify the AA, AB and BB genotypes, from the standardization of each of the techniques used within the Methodology.

Key Words: Genotype, GH, IGF-I and IGF-II, SNP's, Allelic Variation

Resumo.

A produção de ovinos e caprinos na Colômbia atualmente tem um crescimento produtivo regional e cultural, dado que é um fator tecnológico e, embora em grande parte, a produção desses animais se baseou no uso de raças puras, outra parte se concentrou em a implementação de animais crioulos e cruzamentos entre eles, a fim de poder estabelecer algumas características que são desejáveis na população produtiva. Como é o crescimento muscular, entre as coisas que são adiadas no gene do hormônio do crescimento GH e o gene do hormônio do fator insulínico de crescimento (IGF-I e IGF-II), onde o objetivo principal foi identificado as variações alélicas em genes relacionados às características do crescimento muscular, de 100 habitantes de ovelhas crioulas colombianas, pertencentes a Cordova, sopé do Piemonte e vales inter-andinos. Para isso, as variações alélicas foram determinadas, para GH, como alelos A e B, que foram 58,9% e 41,41%, respectivamente, as frequências genotípicas, 64,6% de heteroziguidade (AB), 26,3% homozigéticas para o genótipo AA e para O BB estava determinado a ser 9,1%; IGF-1 em seus respectivos (IGFov1, IGFov2, IGFov3) foi obtido para a frequência alélica os valores 36,87%, 53,76%, 56,81%, respectivamente, para o alelo A, enquanto que para o alelo B foi obtido 63,13%, 46,24%, 43,18%. O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), heteroziguidade esperada (He) e heteroziguidade observada (Ho) foram calculados usando o índice de ligação alélica usando o software Gen Alex. Foi possível determinar a presença de polimorfismos para cada um dos marcadores, por meio do PCR-SSCP, podendo identificar os genótipos AA, AB e BB, a partir da padronização de cada uma das técnicas utilizadas na Metodologia.

Palavras-chave: Genótipo, GH, IGF-I e IGF-II, SNP, variação alélica

Contenido

Resumen.....	7
Abstrac.....	8
Resumo.....	9
Lista de tablas.....	12
Lista de figuras.....	13
INTRODUCCIÓN.....	15
PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.....	18
JUSTIFICACION.....	20
OBJETIVOS.....	22
Objetivo general.....	22
Objetivo específico.....	22
MARCO REFERENCIAL.....	23
1. Ovino cultura.....	23
2. Origen de los ovinos.....	24
3. Ovinos criollos colombianos.....	25
3.1. Características generales de la raza criolla.....	27
3.2. Características de procedencia.....	28
3.3. Ubicación actual.....	30
3.4. Características fisiológicas y anatómicas.....	32
4. Fisiología de crecimiento muscular.....	32
5. Factores que influyen en el crecimiento muscular.....	35
6. Fases del crecimiento.....	36
6.1. Desarrollo prenatal en ovinos.....	36
6.2. Desarrollo posnatal en ovinos.....	39
7. Genes reguladores del crecimiento muscular.....	40
7.1. Hormona del crecimiento.....	40
7.2. Factor insulínico de crecimiento (IGF.1).....	41
7.3. Otras hormonas.....	43
• Factor de crecimiento hepatocito (HGF):.....	43
• Factor mecano crecimiento (MGF):.....	43
• Factor de crecimiento fibroblasto (FGF):.....	44
• Citoquinas:.....	44
8. Genómica en la producción animal.....	45

9. Mejoramiento genético animal.....	46
10. Polimorfismos.....	47
11. Marcadores Moleculares y producción animal.....	49
12. Técnicas de aplicación en la genética molecular animal.....	50
12.1. Tipos de Marcadores.....	51
13. METODOLOGÍA.....	53
13.1. POBLACION.....	53
13.2. MUESTRAS.....	54
13.3. EXTRACCION ADN GENOMICO.....	54
13.4. MARCADORES GENETICOS.....	55
13.5. GENOTIPIFICACION.....	56
13.6. ANALISIS ESTADISTICO.....	58
RESULTADOS Y DISCUSION.....	59
I. Cuantificación de ADN.....	59
II. Genotipificación.....	60
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACION.....	83
Bibliografía.....	85

Lista de tablas

Tabla 1. Principales características fenotípicas del ovino criollo colombiano.

Tabla 2: Taxonomía del ovino actual.

Tabla 3: Población ovina por municipio y departamento.

Tabla 4: Comparación de las etapas del desarrollo en diferentes especies animales de interés zootécnico.

TABLA 5: Secuencia de los iniciadores Forward y Reverse de los marcadores que se utilizaron en el presente estudio.

Tabla 6: Parametros de corrido de los primer's utilizados.

Tabla 7: Determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador GH.

Tabla 8: Valores de Heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

Tabla 9: Determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador IGfov1.

Tabla 10: Valores de Heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

Tabla 11: Determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador IGfov2.

Tabla 12: Valores de Heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

Tabla 13: Determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador IGfov3.

Tabla 14: Valores de Heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

Lista de figuras

Figura 1: ubicación geográfica de zonas establecidas de producción ovino y caprina.

Figura 2: grafico tomado de: crecimiento e desenvolvimiento do tejido muscular.

Figura 3: Estadios de la formación embrionaria en ganado.

Figura 4: Gel de agarosa en concentración de 1.5%, visualización y cálculo aproximado de concentración en ng/Banda

Figura 5: Estructura y ubicación del gen GH ovino.

Figura 6: Gel de agarosa al 2% para el marcador GH.

Figura 7: Gel de poliacrilamida genotipos del marcador GH.

Figura 8: Estructura y ubicación del gen IGF-I ovino.

Figura 9: Perfil electroforético de gel de agarosa al 2% para el marcador IGFOV1.

Figura 10: Perfil electroforético de gel de poliacrilamida genotipos del marcador IGFOV1.

Figura 11 Perfil electroforético de gel de agarosa al 2% para el marcador IGFOV2.

Figura 12: Perfil electroforético de gel de poliacrilamida genotipos del marcador IGFOV2.

Figura 13: Perfil electroforético de gel de agarosa al 2% para el marcador IGFOV3.

Imagen 14: Perfil electroforético de gel de poliacrilamida genotipos del marcador IGFOV3.

Figura15: representación gráfica de los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico para chi- cuadrado (X^2), con valor de ($p < 0.05$) para cada marcador GH, IGFOV1, IGFOV2, IGFOV3.

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.

ADN	Acido desoxirribonucleico.
bGH	Hormona del crecimiento en bovino.
EHW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
GH	Hormona de crecimiento.
GHRH	Hormona liberadora de la hormona de crecimiento.
HGF	Factor de crecimiento hepatocito
IGF	Factor insulinico de Crecimiento.
MGF	Factor mecano crecimiento
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Nm	nanómetro
OvGH	Hormona del crecimiento en ovino.
Pb	Pares de bases.
PCR	Polymerase Chain Reaction.
QTL	Locus de un carácter cuantitativo.
RFLP	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción.
SNP	Single Nucleotide Polymorphism.
SSCP	Single Stranded Conformational Polymorphism.
ST	Somatostatina

INTRODUCCIÓN.

La historia indica que los actuales ovinos viene de procedencia Asiática desde los años 12000 a 9000 A.C donde se dice que el principal antecesor de los ovinos es el muflón cuyo animal es originario de Europa, este es un animal salvaje, casi sin lana, de carácter activo y asustadizo. En las Antiguas civilizaciones como la Griega, Egipcia, Babilónica entre otras comenzaron a utilizar el vellón procedente de estos para cubrir ciertas necesidades básicas tales como lo es la vestimenta y de igual manera utilizaron su carne para la alimentación (Manual de ovinos 3° año ciclo basico agrario, s.f, pág. 9).

Mientras que los ovinos que se distribuyeron durante los viajes de Colón, constituyeron la base racial actual del ganado ovino destinado a la producción de lana en América; las razas de dicho ovinos se explotaron y se reprodujeron sin orden alguno, lo que produjo un mestizaje que perduró durante siglos. Con el paso del tiempo, dichos ovinos dieron lugar a las denominadas razas ovinas criollas de América que persisten hoy en día en forma de pequeños núcleos, generalmente en zonas marginales (ASCUE, 2013).

En cuanto los ovinos a nivel mundial son una especie que tiene mucha importancia y más aún cuando se refiere a países que están en su pleno desarrollo pero de igual manera no dejan de ser una especie importante en países desarrollados, del mismo modo las cabras y los camélidos son grandes contribuyentes substanciales tanto en la alimentación para los seres humanos, y sus usos derivados tales como la vestimenta, protección y preservación ambiental (Bermejo & Baena, 2009).

Además estas ovejas representan un alto porcentaje de las poblaciones en países de Latinoamérica (entre el 20 y el 90%) en Guatemala, México, Nicaragua, Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. El pelaje del ovino presenta ciertas características visibles tales como, el largo y muchas veces presentan una variedad y diversidad de colores o este mismo puede ser en una sola tonalidad negra. Su lana es gruesa y la producción de este no excede de 1kg/año; sin embargo, puede ser de gran importancia para la industria artesanal de tejidos. Los mayores méritos de los ovinos Criollos es que presentan una gran rusticidad, y su fácil adaptación al terreno montañoso y su longevidad (ASCUE, 2013).

La actual oveja doméstica se conoce científicamente como *Ovis aries*, lo que indica su pertenencia al género *Ovis*, el cual está integrado en la familia *Bovidae*, y ésta a su vez en el orden *Artiodactyla*, es uno de los más importantes de los mamíferos desde el punto de vista zootécnico (Clutton-Brock, 1987). Estas razas locales integradas bajo el contexto y la denominación del término “criollo”, suponen unos recursos larvados para el desarrollo rural sustentable de los países, un desarrollo mirando hacia el interior, hacia las propias culturas y la integración en los ecosistemas (Bermejo & Baena, 2009).

La introducción de esta especie animal a Colombia deriva de animales procedentes desde África (oveja africana), junto con la llegada de los esclavos en las tripulaciones de los conquistadores colonos, aumentando y manteniendo un numero grande de especies de áfrica occidental, cuyo principal uso era la alimentación de los mismos esclavos, pero posteriormente, se habla que la introducción de las ovejas a Colombia, y de que estas son introducidas por la costa Atlántica

mediante comerciantes magdalenenses que mercadeaban junto con Aruba y Curazao, y contrabandistas que viajaban entre las islas Caribe y la Guajira (Franco, y otros, 2014).

Partiendo de que esta especie animal es explotada en algunas poblaciones, es importante recalcar ciertos factores y parámetros zootécnicos como lo es el crecimiento, siendo esta una característica fisiológica que posee todo organismo pluricelular, el cual se va a ver afectado y/o beneficiados por diferentes factores ambientales, nutricionales, hormonales y parámetros genéticos obteniendo como respuesta un incremento en el tamaño físico del mismo organismo. Dicho crecimiento se ve regulado principalmente por la hormona de la somatostatina o también conocida como la hormona del crecimiento la cual ejerce un efecto dentro del organismo a partir de su producción en el hipotálamo y su regulación en la glándula pituitaria la cual la secreta a nivel sanguíneo, de ahí llegara a células satélites o también o receptores (Díaz, 2012).

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.

Teniendo en cuenta que Colombia posee una gran diversidad climática y diversidad paisajística, donde se destacan las grandes llanuras, altiplanicies, zonas montañosas, sabanas y zonas áridas, en los cuales existen diferentes tipos de producción, pero al mismo tiempo existen un sinnúmero de problemas en cuanto a los rendimientos productivos pecuarios debido a que muchos productores se han enfocado a mantener razas y líneas netamente puras, dejando de lado el potencial de los animales criollos.

En Colombia los sistemas de producción ovina se han caracterizado por tener un nivel tecnológico bajo y por ser un sistema artesanal, sin contar que la información que se tiene sobre este gremio es sesgada, es escasa, cargada de imprecisiones, desactualizada y fuera de contexto estratégico, sin contar, que los ovinos están distribuidos por todo el país, pero que sin embargo la densidad y el tipo de la población ovina varía en las diferentes regiones del país (López, s.f). Como se menciona anteriormente si bien la producción ovina en Colombia está dada de manera artesanal, y la cría de animales, se da de forma extensiva, se establece en lugares donde la producción y el consumo son de carácter regional y cultural (Vargas Bayona, Bello, Serrano Novoa, & Rivera., 2016)

Y que en nuestro país los diferentes sistemas de producción animal buscan mejorar los parámetros productivos y de rendimiento animal, para esto, durante estos procesos se pretende aplicar diferentes herramientas que ayuden a optimizar dichos parámetros en el mejoramiento genético y la selección de animales, existen diversos factores que inciden dentro de la producción, tales como la genética, la nutrición, la secreción hormonal, y el medio ambiente en el que se encuentre

la población, En la actualidad son muy pocos los estudios realizados en torno a modificaciones genéticas en la hormona del crecimiento, asociados al crecimiento muscular en el ovino criollo colombiano, partiendo de los parámetros fisiológicos productivos de rendimiento animal, para la identificación de animales con potencial genético que puedan incluirse en programas de reproducción.

Dentro de los planes de mejoramiento se pretenderá dar conocer el valor de la genética de los ovinos criollos, siendo individuo importante para alcanzar los parámetros benéficos de producción, como factor indispensable a manera de producto de alta calidad y que sustente la capacidad de respaldar la necesidad básica del hombre, a partir del consumo de proteína de origen animal y mejorar ciertas características que ayudan directamente a la adaptabilidad, conversión alimenticia como capacidad productiva.

JUSTIFICACION.

Se plantea realizar una evaluación de polimorfismos de nucleótidos simples en las hormonas asociadas al crecimiento muscular en ganado ovino criollo, para así aumentar porcentualmente los parámetros genéticos en la selección de nuevos individuos destinados a mejorar los rendimientos productivos en la ganadería ovina colombiana, de igual manera determinar si se ve afectado o beneficiado el crecimiento de los mismos, partiendo de los factores hormonales que rigen y se enlazan en la secreción y recepción hormonal que contribuyan al desarrollo muscular de los animales.

Dentro del mejoramiento genético cuantitativo es importante entrelazar la biología molecular, ya que partiendo de sus herramientas para el mismo análisis, permite el estudio hereditario de las diferencias genéticas de los individuos, siendo este el principal precursor del mismo mejoramiento ya sea cuantitativo o cualitativo, siempre desde el punto de vista de que el mejoramiento genético es un conjunto de procesos de selección, donde su principal objetivo es aumentar la frecuencia de genes que tiene algún efecto a partir de la combinación genética, las cuales pueden llegar a ser benéficas para la población cumpliendo con el principal objetivo e interés económico para el hombre (Raimundo Nonato Braga Lôbo & Lôbo, 2007).

Actualmente según reportes de la FAO desde el año 2000 al 2014 Colombia cuenta en promedio con 2,721,953.27 cabezas de ganado ovino, dato que es significativamente bajo en comparación con el número de cabezas de ganado vacuno, en Colombia el cual cuenta en promedio con 25,315,171.80 cabezas de ganado, sin contar que las producciones ovinas se enfatizan en la producción con razas netamente especializadas, pero en las cuales se puede implementar el uso

de animales criollos ya que estos presentan mejor adaptabilidad a los diferentes climas que se tienen en nuestro país, Aunque la selección que se realiza en muchos establecimientos es a partir por características fenotípicas (el animal más grande, rustico, etc.) no quiere decir que sus características genotípicas sean expresadas en su totalidad a sus progenies.

Entre las características fenotípicas que más son observadas en los individuos es el crecimiento y fisiológicamente la llega a la pubertad etapa en la cual dicho animal es netamente productivo tanto a nivel nutricional (capacidad que tiene un animal en transformar los nutrientes en leche, carne, lana), parámetros reproductivos y un mejor sistema de defensa contra parásitos, para así ir disminuyendo costos en producción, estas deben ser un aspecto claro para su mejora y a donde todo pequeño, mediano o grande productor debe apuntar para maximizar los rendimientos productivos, entre uno de los tantos problemas que se encuentra en los sistemas de producción son la selección de nuevos individuos, siendo este uno de los principales factores que llegan a afectar la rentabilidad de los sistemas de producción.

OBJETIVOS

Objetivo general.

- Identificar las variaciones alélicas en genes relacionados a características de crecimiento muscular en poblaciones de ovinos criollos Colombianos.

Objetivo específico

- Estandarizar la técnica de extracción de DNA genómico de alta calidad mediante el uso de fenol cloroformo isoamil, a partir de sangre de ovino criollo colombiano.
- Seleccionar una serie genes candidato involucrados con características fisiológicas del desarrollo y crecimiento muscular en ovinos.
- Genotipificar muestras de ovinos criollos colombiano mediante el uso de la técnica PCR-SSCP.
- Determinar frecuencias alélicas y genotípicas de los genes candidatos seleccionados en este estudio.

MARCO REFERENCIAL.

1. Ovino cultura.

La cadena ovina y caprina en Colombia se ve diferencia en dos sistemas de producción, en la primera, se encuentra la producción cárnica y la elaboración de productos artesanales, mientras que el segundo sistema está enfocado en la producción lechera y sus derivados, esta cadena inicia su proceso productivo con la cría de reproductores y hembras destinadas a vientres para la producción de reemplazo, en el cual se desea mantener la genética de los animales que se destinan a la producción, buscando que estos animales presenten una buenas características, productivas, explotación y adaptativas, en estas encontramos la adaptabilidad del usos forrajero presente en la región climatografica y también tiene una buena aptitud materna (Espinal, Covaleda, & Amézquita, 2006).

Posterior a la colonización, esta cadena se encuentra ubicada principalmente en los departamentos de Magdalena y Cesar, la zona desértica de La Guajira, y en Santander en la Hoya de río Suárez y el Cañón del Chicamocha, zonas clasificadas como bosque seco tropical, monte espinoso premontano, y bosque seco premontano, partiendo de dichas características geográficas, la producción ovina y caprina ha sido dada en forma artesanal y siendo criadas en forma extensiva, lugares donde la producción y el consumo son de carácter regional y cultura, pero en donde la producción del animales criollo ha sido caracterizada por innumerables factores positivos tales como: longevidad, resistencia a enfermedades, excelente aclimatación a ambientes áridos y producción de leche aceptable (Vargas Bayona, Bello, Serrano Novoa, & Rivera., 2016).

La producción ovina en Colombia se ha basado en la utilización de animales netamente de raza, algunas producciones con razas criollas y/o el cruzamiento entre estas para mantener y fortalecer el vigor híbrido para la producción cárnica, caracterizándose en producción semi-intensivo con bajo a medio nivel tecnológico (Vergara Garay, Llorente M, Ramos C, Bustamante Yáñez, & Simanca Sotelo, 2016).

2. Origen de los ovinos.

Se habla que los actuales ovinos viene de procedencia Asiática desde los años 12.000 a 9.000 A.C donde se dice que el principal antecesor de los ovinos es el muflón cuyo animal es originario de Europa, este es un animal salvaje, casi sin lana, de carácter activo y asustadizo. En las Antiguas civilizaciones como la Griega, Egipcia, Babilónica entre otras; comenzaron a utilizar el vellón procedente de estos para cubrir ciertas necesidades básicas tales como lo es la vestimenta y de igual manera utilizaron su carne para la alimentación (Manual de ovinos 3° año ciclo basico agrario, s.f, pág. 9).

El muflón europeo (ver figura 1) es uno de los ovinos más pequeños que existe con una altura a la cruz de 65-75 cm en hembras y de 70-80 cm en machos, con una longitud de 120 a 140 cm desde el tronco a la cabeza, sus extremidades son largas y delgadas, la cabeza es proporcional al tamaño del cuerpo, pero sus orejas son pequeñas, cuello largo y delgado, una característica física que solo poseen los machos es la presencia de cuernos en forma de espiral de hasta 90 cm de longitud y 4,5-6 kg de peso (Moreno, Díaz, & Sebastián, 2004).

Los ovinos que se distribuyeron durante los viajes de Colón, en conquista de nuevos territorios produjeron la base racial del ganado ovino actual destinado a la producción de lana en América; las razas se explotaron, sin orden alguno en la reproducción, lo que produjo un mestizaje que perduró durante siglos. Con el paso del tiempo, dichos ovinos dieron lugar a las denominadas razas ovinas criollas de América que persisten hoy en día en forma de pequeños núcleos, generalmente en zonas marginales (ASCUE, 2013).

Después de la llegada de los españoles a tierras americanas y del mestizaje se pudo determinar dos razas principalmente, siendo estas razas ovinas indígenas de Latinoamérica, partiendo del ovino criollo de pelo de las masetas, el cual descende de la raza churras y merina, las cuales son provenientes de la península ibérica. Pero de igual manera se encuentran coincidencias con el ovino originario de África el cual es introducido en la época de comercio de esclavos (Teruel, 2001).

3. Ovinos criollos colombianos.

El ovino criollo colombiano también llamado, pero no bien visto oveja africana, camuro o pelonas, dependiendo de la región donde se críe, es un animal originario del continente africano, con posterioridad partiendo del año 1940 con la llegada de núcleos de ovinos africanos rojos (Etiópe) incorporándose en la zona de venadillo, Armero y Honda; y en 1990 el INCORA (ahora llamado instituto colombiano de desarrollo rural INCODER) importaron ejemplares de la raza persa blanca cara negra para realizar procesos de mejora en las explotaciones, dando características propias al lugar de explotación, en la costa Atlántica animales tipo Sudan y en la zona Andina animales tipo Etiópe (Dorado, Huertas, Rivera, & Escobar, 2002).

Tabla 1. Características fenotípicas del ovino criollo colombiano, a partir del estudio de 102 hembras ovinas criollas y 9 machos ovinos criollos. (Pastrana & Calderon).

Parámetros	Hembras				Macho			
	Promedio cm	Desviación estándar	Valor mínimo cm	Valor máximo cm	Promedio cm	Desviación estándar	Valor mínimo cm	Valor máximo cm
Longitud corporal	64.05	3.53	55	74	67.78	5.59	59	75
Ancho del tórax	19.98	2.33	15	26	19.56	3.13	13	24
Ancho de la espalda	25.15	2.61	20	33	25.67	3.39	22	32
Profundidad de pecho	31.3	3.20	26.10	35.65	28.87	2.22	21.33	35.33
Tamaño corporal (cc)	50938	13727	31912	72868	42436	7096	28303	66276
Alzada	62.81	4.80	47	73	69.22	6.22	60	76
Altura de la grupa	63.59	4.91	46	73	68.33	5.48	59	74
Perímetro del tórax	90.61	6.93	67	111	98.33	10.05	82	112
Perímetro de la caña	7.98	0.69	7	10	9.17	1.00	8	11
Longitud del cráneo	25.47	1.72	21	31	28.78	3.36	24	33
Longitud de la cara	18.03	1.77	14.5	23	18.22	1.39	16	20
Ancho de la cara	20.58	1.77	16	27	22.72	3.32	17	27
Longitud de la oreja	11.12	1.18	9	15	10.78	1.06	9	12.5
Ancho de las orejas	6.83	0.71	5	8	7.61	0.55	7	8.5
Largo de los pezones	2.88	0.56	2	6	-	-	-	-
Perímetro testicular	-	-	-	-	31.17	3.04	26.5	37
Longitud testicular	-	-	-	-	17.72	2.39	13	21

Taxonomía

Los ovinos y caprinos son mamíferos, cuadrúpedos, originario de Europa es una de las especies utilizadas en la producción animal. Estos animales poligástricos (tiene cuatro cavidades estomacales) por lo cual pertenece al Dominio: *Eucariota*, Reino: *Metazoo*; Phylo: *Chordata*; Subphylo: *Vertebrata*; Clase: *Mammalia*; Orden: *Artiodáctilo*; Suborden: *Ruminantia*; Familia: *Bovidae*; Genero: *Ovis*; Especie: *Ovis aries* (Invasive Species Compendium, 2013).

Tabla 2: taxonomía del ovino actual, información tomada de *Ovis aries* (doméstica) Linnaeus, 1758; (Legorreta, 2005).

Reino	<i>Animalia</i>
Phylo	<i>Chordata</i>
Clase	<i>Mammalia</i>
Orden	<i>Artiodactyla</i>
Familia	<i>Bovidae</i>
Nombre común	<i>Ovis aries</i>

3.1. Características generales de la raza criolla.

Raza Africana.

La oveja africana se caracteriza por tener un pelo corto, fino, suave y delgado, lo que permite poder obtener una visualización de las venas, es un animal de tonalidad colorada, que van desde un rojo oscuro, cereza a una tonalidad amarilla pálida, en la región craneal, se caracteriza por ser acornó, buena conformación, ojos grandes y vivos, orejas pequeñas, todo proporcional al tamaño del

cuerpo. Posee buena agilidad, es rustico, de buena fecundidad y con una muy buena adaptabilidad a los diferentes ecosistemas (Gutierrez, 1992).

Raza Sudan.

Dentro de este grupo de ovejas procedentes de África se habla que estas se clasifican en tres grupos recalcando principalmente de los animales de desierto y nilóticos (Ockerman & Aziz, 1985). Las ovejas del desierto son de los principales animales de producción de carne ovina y leche en los trópicos, pero a ello se vincula el correcto manejo, promoviendo la productividad (Mufarrih & FAO, 2017)

Raza etíope

La raza etíope, originaria de África es constituida o llamada como oveja indígena, estos animales se caracterizan por tener una buena adaptabilidad a medio ambientes adversos como la sequía (Tucho, 2004).

3.2. Características de procedencia.

Como se ha mencionado anteriormente la raza ovina criolla colombiana está determinada y basada en características raciales de animales provenientes de diferentes países y continentes, los cuales han caracterizado la base racial actual; debido a ello se exponen algunas características de las principales razas, que constituyen la base racial (ASCUE, 2013).

Raza Churra.

La raza churra es un animal, procedente de España, principalmente de Castilla y de León, siendo un animal con gran adaptabilidad a climas fríos (invierno), si bien esta raza de oveja es netamente productora de leche, cuenta con una gran rusticidad. (San Primitivo, 2000).

Sus principales características físicas son que presenta pigmentación negra en sus orejas, alrededor de los ojos, región nasal, bucal y a nivel de las pezuñas.

Raza Merina.

Como principal antecesor se encuentra el *Ovis Aries Vignei*, el cual es considerado el antecesor del ovino de la raza merina, posterior a una serie de procesos, originándose este animal desde Asia menor hasta la península ibérica, aunque no se conoce en su totalidad el proceso de desarrollo que esta especie ha tenido en ese tiempo trayendo consigo algunas mutaciones adquiridas a través del espacio y el tiempo (Asociación Argentina Criadores de Merino., 2006). En cuanto a características físicas es un animal que posee sus mucosas y pezuñas des pigmentadas, su lana se encuentra agrupada en “mechones” gruesos (raza productora de lana), posee una gran adaptabilidad a climas templados, tropicales, áridos y semiáridos (Dirección provincial de la educación técnico profesional dirección de educación agraria, s.f).

3.3. Ubicación actual.

Los departamentos en los cuales existe una mayor producción ovina y caprina en Colombia son en su orden Boyacá, Guajira, Cundinamarca, Nariño, Santander, Cauca, Norte de Santander, Caldas y Tolima (Gutierrez, 1992).

Según datos reportados por el ICA en el censo agropecuario, dice que la explotación de la especie ovina se distribuye porcentualmente en los departamentos de La Guajira (46,69%), Boyacá (8,04%), Magdalena (7,71%), Córdoba (5,55%) y Cesar (5,41%), pudiéndose agrupar el 73,39%, registrándose la existencia de 1´423.274 ejemplares. (ICA, 2016).



Figura 1: ubicación geográfica de zonas establecidas de producción ovino y caprina en el país.

Tabla 3: tomada del Censo pecuario Nacional, tabla de población ovina por municipio y departamento, 2016, Instituto Agropecuario Colombiano (ICA, 2016).

DEPARTAMENTO	TOTAL OVINOS 2016
AMAZONAS	0
ANTIOQUIA	32.336
ARAUCA	13.249
ATLANTICO	9.688
BOLIVAR	19.908
BOYACA	105.937
CALDAS	9.509
CAQUETA	23.731
CASANARE	13.897
CAUCA	16.014
CESAR	88.370
CHOCO	1.326
CORDOBA	87.304
CUNDINAMARCA	44.723
DISTRITO-CAPITAL	648
GUAINIA	0
GUAVIARE	3.045
HUILA	5.129
LA-GUAJIRA	619.940
MAGDALENA	110.844
META	27.292
NARINO	12.507
NORTE-SANTANDER	16.343
PUTUMAYO	4.177
QUINDIO	578
RISARALDA	1.122
S.ANDRES/PROVID	134
SANTANDER	64.137
SUCRE	32.733
TOLIMA	48.821
VALLE	8.783
VAUPES	0
VICHADA	1.241
Total general	1.423.466

3.4. Características fisiológicas y anatómicas.

Las características anatómicas que se pueden distinguir en los ovinos criollos en cuanto a su morfología son el tamaño de su cabeza, cuello, oreja y su dirección, el perfil craneal, nivel de inclinación de la grupa, y la profundidad de la ubre este último en el caso de las hembras, también se pueden observar, características fisiológicas que van de acuerdo al color de la capa, presencia de pigmentación en las mucosas nasales, pezuña y ubre. En cuanto a su morfología el tronco presenta una forma lineal, con costillares arqueados, tórax poco ancho pero presenta una buena profundidad. La línea dorso-lumbar es ligeramente descendente hacia la grupa, mostrando la alzada a la cruz mayor valor que la alzada a la grupa. La cola es relativamente larga y presenta nacimiento medio-bajo. El abdomen es amplio, de buena capacidad con tendencia a ser cilíndrico (Donicer V. Montes, 2013).

Pero a nivel del craneal el animal presenta un perfil ligeramente cóncavo, observándose las prominencias supra orbitarias, cuanto a sus orejas estas se insertan en forma horizontal, con un tamaño pequeño o mediano (Bravo & Sepulveda, 2010).

4. Fisiología de crecimiento muscular.

Los animales presentan un crecimiento a partir de la función del tiempo, siendo representada a partir de la línea sigmoidea, durante el crecimiento, el individuo pasa por ciertas fases o estadios, aumentando asimismo la tasa de peso, entre los estadios fisiológicos se encuentra la pubertad, en dicha etapa el animal se encuentra en una fase de desarrollo y crecimiento lineal el cual es constante (Bridi, s.f).

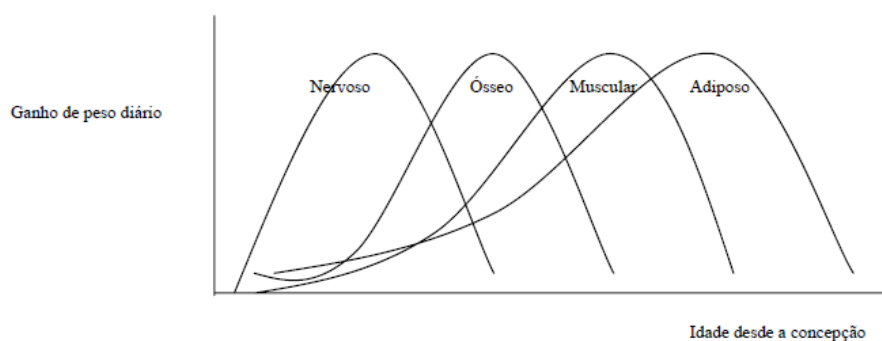


Figura 2: gráfico tomado de: crescimento e desenvolvimento do tecido muscular (Bridi, s.f).

Cada fibra muscular es formada durante el desarrollo embrionario por la fusión de un número de células mono nucleadas, no diferenciadas, conocidas como mioblastos, en una sola celda multinucleada cilíndrica, está pudiendo diferenciarse del musculo esquelético debido a que este completa en su desarrollo posnatal, y estas fibras caídas difieren continua aumentando el tamaño del mismo (widmaier, s.f).

El crecimiento muscular está definido por dos momentos en su desarrollo la hiperplasia y la hipertrofia definiéndose como hiperplasia el crecimiento o el aumento en el número de celular musculares, y la hipertrofia, hace referencia al aumento del tamaño de las células musculares siendo estos los factores determinantes en el proceso de crecimiento muscular (Mohammad Koohmaraie, 2002).

De igual manera el crecimiento y el desarrollo son procesos continuos los cuales se ven beneficiados médiante procesos fisiológicos durante el desarrollo del mismo organismo, dentro de

los parámetros fisiológicos que intervienen directamente en el proceso del crecimiento se integra todas aquellas necesidades y funciones básicas del organismo, entre las más relevantes se encuentra la nutrición, eficiencia del metabolismo y las respiración, regulación hormonal, respuesta inmune, el mismo estado fisiológico y condición del animal y por último el mantenimiento homeostático (instructional materials service).

Durante el proceso de crecimiento muscular, el musculo sufre varios cambios en cuanto a su composición química (a partir de la edad), su tamaño el cual se da a partir del tiempo y el desarrollo, pero a medida que el desarrollo y el crecimiento del animal aumenta, su eficiencia alimenticia tiende a decrecer, partiendo de que los requerimiento nutricionales de mantenimiento aumentan, siendo esta una característica asociada al peso corporal (Bridi, s.f).

Pero el crecimiento también puede ser definido como un aspecto del mismo desarrollo, siendo este un proceso en el cual existe un aumento de tamaño, reflejándose en la altura, longitud, volumen, esto cuando se satisfacen las necesidades fisiológicas básicas (Rodriguez, 2010).

En los mamíferos se observa una mayor influencia genética en el fenotipo, siendo este transmitido por la madre a sus progenies, entre factores más representativos se encuentran efectos maternos que contribuyen a estas influencias siendo este atribuido sobre el impacto fenotípico del individuo manifestándose este en aspectos como la fertilidad, gestación, lactación, siendo este presente en mayor periodo de vida (Faria, 2006).

En cuanto al musculo esquelético se dice que constituye aproximadamente el 50% del cuerpo, siendo así el órgano más grande en el cuerpo, para ello hay que tomar en consideración el metabolismo de dicho musculo esquelético, jugando este un papel de suma importancia en la regulación electrolítica de Potasio, Calcio, glucosa y pH (5,6), pero en cuanto a las necesidades metabólicas del musculo esquelético varían de acuerdo al musculo, en el caso de los músculos contráctiles son dependientes del uso de ATP y bajo la regulación hormonal (Ehrenborg & Krook, 2009).

Fisiológicamente el crecimiento del musculo esquelético se basa en la proliferación e incorporación de células satélites en las fibras musculares y los cambios en la síntesis y degradación proteica en el musculo, haciendo que el crecimiento de las fibras multinucleadas se rijan por el aumento de su longitud, y número de núcleos (ADN, ARN total) y la proteína presente, esto debido que después del nacimiento no hay un aumento por hiperplasia, pero si en la cantidad total de proteína y el peso del musculo, siendo el crecimiento del musculo esquelético regulado por la activación de la transcripción nuclear en las fibras musculares (Beermann, 2014).

5. Factores que influyen en el crecimiento muscular.

Como se ha mencionado anteriormente el crecimiento se ve influenciado por diferentes factores entre los cuales se recalcan aquellos como el medio ambiente, nutrición, y factores genéticos, desde el punto de vista y la funcionalidad de las variabilidades como herramienta para la toma de decisiones en una población (Faria, 2006).

El crecimiento se ve influenciado por diversos factores entre ellos se encuentran, características ligadas al genotipo fetal y el medio uterino en el que se desarrolla el organismo, dentro de este se aprecia factores genéticos y ambientales a nivel de los parentales, como el tamaño materno y la disponibilidad o capacidad de suplir los nutrientes al feto, actuando intrínsecamente con el patrón del crecimiento del feto, dentro de los parámetros que influyen se encuentra la carga génica, estos, debido a que algunos genes contribuyen directamente al crecimiento fetal y al peso al nacimiento, estudios demuestran que existe una influencia materna y paterna, está presente, durante el desarrollo fetal y estas son transmitidas al feto durante el desarrollo (Timothy R. H. Regnault, 2015).

El sistema nervioso también juega un papel de suma importancia en la regulación hormonal para el crecimiento debido a que este actúa sobre la regulación endocrina del crecimiento y desarrollo pos-natal, siendo la fisiología del crecimiento en animales de carnes regulado por factores influyentes en el metabolismo y procesos de crecimiento celular en el tejido, la somatostatina (ST) juega de igual manera un importante uso en la partición de nutrientes para el crecimiento entre los tejidos, estimulando e crecimiento óseo y del musculo esquelético (Beermann, 2014).

6. Fases del crecimiento

6.1.Desarrollo prenatal en ovinos.

Existen diferentes factores que juegan un papel de suma importancia en el desarrollo placentario y fetal, como lo es el factor insulínico del crecimiento (IGF-I e IGF-II), siendo estos péptidos mito génicos que cumplen una función reguladora del crecimiento fetal debido a su capacidad como estimulador en el aumento y diferenciación de diferentes tipos celulares (J M Brameld, 2000).

Dentro del desarrollo prenatal existen diferentes factores que influyen en el crecimiento, lográndose clasificar en nueve grupos, tal como los son: Genotipo, tamaño de la placenta, tamaño y edad de la madre, nutrición materna, sexo del feto (lográndose evidenciar que el feto del macho posee una tasa de crecimiento mayor con respecto a la de la hembra), Numero de crías al parto, temperatura ambiental, sanidad y hormonas, aunque se cree que existe relación entre la hipófisis y la secreción de la somatostatina (ST) no es necesaria para la diferenciación o el crecimiento intrauterino, en cambio hay atribuciones acerca de la acción de la glándula tiroidea (Rodríguez, y otros, 2005).

Tabla 4: comparación de las etapas del desarrollo en diferentes especies animales de interés zootécnico, de crecimiento y desarrollo (Chopa, s.f)

	ESPECIE			
	Bovino	Ovino	Equino	Porcino
ETAPA cigoto	15	12	12	13
Embrionario	45	34	60	31
Fetal	215	104	263	71
Nacimiento	275	150	335	115

Se ha descrito la composición fetal y los cambios que este presenta mediante tasas de crecimiento, calculadas a partir de ecuaciones ajustadas (ecuación de Gompertz, “Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz y su aplicación al crecimiento”) la cual fue desarrollada originalmente para mediciones lineales de los esqueletos fetales (McDonald, Robison, Fbaser, & Smart, 1979)

Aunque en diferentes postulaciones y estudios realizados por diferentes autores referentes al crecimiento y desarrollo prenatal o fetal se restringen a hablar al último tercio de la gestación y en la descripción de los cambios en la relación al peso y la edad, logrando realizar estimaciones del tamaño fetal, pero no siendo exactas (Robinson, 1981).

De igual manera el desarrollo embrionario cuenta con ciertas etapas que permitirán el correcto desarrollo y crecimiento, siendo estas la segmentación, blastulación, gastrulación y organogénesis, en esta última etapa se lleva a cabo el proceso de formación de órganos, entre los cuales cada división epitelial cumple una función específica. De donde del ectodermo derivan tal como la epidermis, las glándulas anexas, el tejido nervioso, el esmalte de los dientes. Del mesodermo se originan: los músculos esqueléticos, el tejido conjuntivo, el sistema circulatorio, las células sanguíneas y linfáticas, los riñones, etc. Mientras que del endodermo se originan: el hígado, el páncreas, el epitelio y las glándulas intestinales, los pulmones, la tráquea, las glándulas tiroideas (Chopa, s.f).

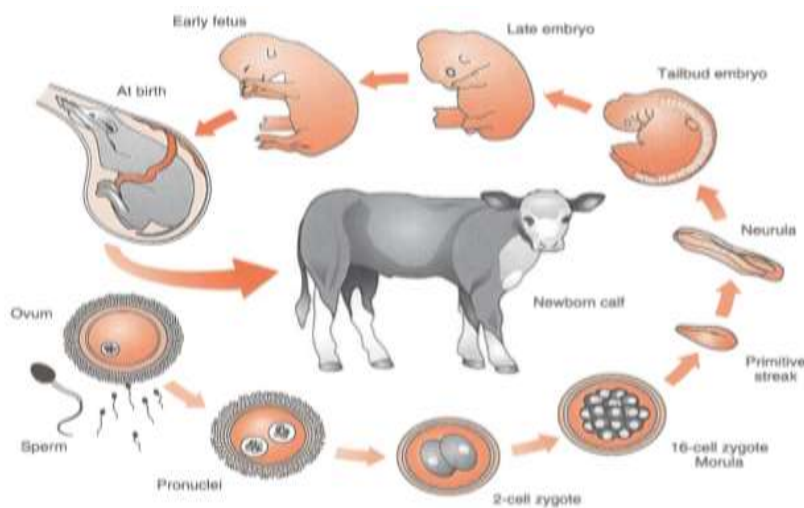


Figura 3: Estadios de la formación embrionaria en ganado; en placenta mamífero Modificado en blástula llamada blastocitos, (Chapter 2: Animal growth, Development, Meat, and slaughter).

6.2. Desarrollo posnatal en ovinos.

En una primera medida referente al crecimiento postnatal en rumiantes es la relación que existe entre la nutrición y el desarrollo prenatal a nivel uterino, debido a que madres con bajo nivel nutricional no cumplirá con los requisitos energéticos, también encontrándose una relación con el porcentaje de ingesta proteica materna durante el primer y segundo trimestre de gestación (en el caso de los bovino y su tiempo de gestación) debido a que si esta es baja se tendrá una reducción en el peso al nacimiento, esto debido a la restricción proteica (Bell & Greenwood, 2016).

El desarrollo posnatal es el proceso en el cual existe un incremento en la masa muscular esquelética, a través de un proceso denominado hipertrofia, es decir, es el aumento en el tamaño de las células musculares, que a su vez induce al musculo esquelético a una respuesta a la actividad contracción, pero también a hipertrofia muscular puede ser producida cuando la tasa de síntesis proteica supera la tasa de degradación de las misma (Stefano Schiaffino, 2013).

Las curvas de crecimiento en los animales se ve relacionado de acuerdo a la edad, estos se puede calcular mediante modelos no lineales, donde la asociación de este parámetro determina una característica productiva y reproductiva de los animales como herramienta en programas de mejoramiento (McManus, y otros, 2003). Los animales seleccionados para musculatura, crecimiento y/o grasa se ven determinados por valores estimados en crías, ejerciendo efecto a nivel celular y metabólico, influenciándose por factores nutricionales, aunque en el proceso de hipertrofia del crecimiento del musculo esquelético está dado por principios genéticos y ambientales, existe una regulación en la acumulación proteica y actividad celular en el musculo, actuando como reguladores miogénicos (miogenina), factores de crecimiento similares a la

insulina (IGF1 e IGF2) con sus respectivos receptores tipo 1 (IGF1R), estos genes son importantes en el desarrollo muscular postnatal en el crecimiento muscular, pero no se tiene claro hasta qué punto estos genes regulan la hipertrofia muscular (Nattrass, y otros, 2006).

7. Genes reguladores del crecimiento muscular

7.1. Hormona del crecimiento.

La hormona del crecimiento (GH) es un poli péptido de 191-aminoácidos la que es liberada por somatotrofos en la glándula de la pituitaria anterior (hormone, 1998). Como se menciona previamente la GH es una hormona poli peptídica producida y expresada a nivel hipofisario y periférico, la cual dentro del organismo desempeña una variedad de funciones más allá de las funciones metabólicas y del mismo crecimiento longitudinal del cuerpo, al igual que esta es un producto de secreción adenohipofisaria que está estrictamente sujeta a la regulación hipotalámica por la hormona de GH y somatostatina (Devesa, Devesa, & Reimunde, 2010).

Al igual la hormona del crecimiento cumple diferentes funciones dentro del organismos que van desde el estímulo anabólico de proteínas en diferentes tejidos, como el efecto del aumento de aminoácidos, la captación y el aumento de la síntesis de proteína y la disminución de la oxidación de las proteínas, mejorando la utilización de la grasa mediante la estimulación de la ruptura de los triglicéridos en los diferentes tejidos adiposos, además de tener efectos directos en el crecimiento de los huesos, regulación de la glucosa en sangre (instructional materials service). Como bien es mencionado el efecto de la GH se ve reflejado en diferentes aspectos entre ellos, el crecimiento del tejido visceral, a nivel óseo, músculo y tejido adiposo (Rajni Kumari, 2014).

La síntesis y la secreción de GH están reguladas principalmente por dos neuropéptidos hipotalámicos; la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH) y la somatostatina o la liberación de somatotropina la inhibición de factor. GHRH estimula tanto la síntesis y la liberación de GH (Bideci & Çamurdan, 2009). La GH es importante no solo en desarrollo embrionario sino que también está cumple efectos directamente sobre el metabolismo del individuo y la expresión génica (B. A. Costine, 2004). Como se menciona anteriormente la GH cumple funciones en el metabolismo, como también es el principal promotor de crecimiento de órganos y tejidos, principalmente en los órganos, hueso y musculo (J.L. Jia, 2014).

Igualmente dentro del crecimiento es importante recalcar la participación, y el papel que juegan otras hormonas en conjunto con la GH, dentro de estas se encuentra el factor insulínico del crecimiento (IGF), los IGFs (I y II) o somatomedinas, son moléculas que ayudan en la regulación del crecimiento siendo estas reguladas mediante la secreción de GH y como factor influyente la nutrición (Dominguez, Navarro, Martinez, Henrriquez, & Moreno, 2001).

La estructura del gen de la hormona del crecimiento en ovinos (ovGH) presenta una homología con la hormona del crecimiento en bovino (bGH), esta hormona se encuentra constituida alrededor de 1800 pb (Cobra Moradian, 2013).

7.2. Factor insulínico de crecimiento (IGF.1).

La hormona IGF1 juega un papel importante en el desarrollo y formación de musculo esquelético durante el proceso gestacional, siendo su regulación aún desconocida, la expresión génica del IGF1

se ve influenciada a partir del cortisol (pudiéndose expresar este en sangre), relacionándose con cambios en el individuo tanto al momento del pre-parto como en el mismo desarrollo posnatal como factor en la expresión génica sobre el desarrollo muscular (J. Li, 2002).

Otras hormonas que son importantes en la secreción y la fisiología del crecimiento, son la hormona tiroidea, paratiroidea, insulínica, glucocorticoides y hormonas a nivel sexual. Como también las relacionadas al metabolismo del calcio, calcitonina, parathormona y vitamina D. siendo estas un importante mediador en el crecimiento y el desarrollo, lo que conlleva a hacer referencia al crecimiento somático, el cual se lleva a cabo a partir del desarrollo óseo, siendo este un tejido vivo que está sufriendo constantes cambios en cuanto a formación y resorción, implicando dos tipos de crecimiento uno a nivel longitudinal donde en los huesos se realiza un proceso de osificación endocondrial o el mismo remplazo del tejido cartilaginoso de crecimiento y otro a nivel de la proliferación celular y extracelular (Díaz, 2012).

- La interacción hormonal que se presenta en relación entre la GH y IGF1, está dada en que la insulina tiene un factor estimulador en la síntesis y secreción de la GH, además la acción hipoglucemiantes el cual genera estímulos en el control hipotalámico; mientras que la GH cumple una función como facilitador en la liberación pancreática de la insulina (facilitando la acción de los factores insulínico) dicho proceso asegura la participación de la insulina en la síntesis y excreción de la IGF-1. De igual manera la GH ejerce una acción en tejido y órganos bien sean: huesos, cartílagos, músculos, hígado, corazón, pulmones, intestino, páncreas, glándulas suprarrenales, etc. Promoviendo el crecimiento de los órganos y tejidos presentando un papel anabólico, sobre el metabolismo su principal acción es asegurar el aporte de aminoácidos a los tejidos y la síntesis proteica (Simal, 2012).

7.3. Otras hormonas.

La GH por sí sola no tiene efecto sobre el crecimiento del organismo, para ello necesita la conjunción temporal de otras hormonas como los esteroides sexuales, insulina, hormonas tiroideas, así como el buen funcionamiento del hígado y una buena nutrición. Y sobre todo necesita de la participación de la IGF-1 sintetizada en los tejidos diana de la GH. Salvo en el crecimiento intrauterino donde actúa una IGF-2 independiente de la GH (Simal, 2012).

Entre otras hormonas postuladas en el crecimiento muscular están las siguientes hormonas:

- **Factor de crecimiento hepatocito (HGF):**

Esta hormona también conocida como factor disperso, fue identificada en 1984, como una glicoproteína con actividad mitogénica, en cultivos de hepatocitos, posteriormente se determinó que la HGF tenía acciones biológicas tales como: mitogénesis, angiogénesis, morfogénesis y aumento en la motilidad celular y acciones anti-apoptosis, principalmente en células epiteliales y endoteliales, así como en tejidos durante el desarrollo embrionario de hígado, riñón, pulmón, glándula mamaria, músculo y tejido neuronal (Flores, Gastélum, Rodríguez, & Borunda, 2004).

- **Factor mecano crecimiento (MGF):**

Es un péptido que se produce a través del corte y empalme, provocando un desplazamiento del marco de lectura del código genético. Siendo una variante del IGF-1, expresándose a nivel celular, la MGF es producida en el hígado, a través de algunos estudios realizados se determinó que esta es útil para mantener funciones musculares y esqueléticas, de igual manera se demostró que dicha hormona se expresa en varios tejidos como respuesta a un

estímulo, como la descomposición, debido a que la MGF prolonga la vida media de las secreciones, la cuales son de suma importancia, ayudando al crecimiento y reparación del tejido tanto muscular como esquelético, ayuda a la homeostasis de manera eficiente, debido, a la capacidad mejorada de las células para mantener la funcionalidad en el ciclo celular. (Rasa research, s.f.)

- **Factor de crecimiento fibroblasto (FGF):**

Es un factor de crecimiento representativo al cual se le atribuyen efectos potenciales en cuanto a la reparación y regeneración de tejidos, inicialmente se había identificado como una proteína capaz de promover la proliferación de fibroblastos, FGF ejerce sus funciones fisiológicas uniéndose a los receptores de FGF (FGFR) de tirosina quinasa en la superficie de células diana. Muchos estudios han informado que los FGF tienen funciones tales como la proliferación celular, la migración, la diferenciación y la angiogénesis en diversas células y tejidos (Yun, y otros, 2010).

- **Citoquinas:**

Son proteínas que poseen un bajo peso molecular, funcionando como mensajeros del sistema inmune, regulando la intensidad y duración a una respuesta inmune, pero también puede estimular o inhibir la proliferación celular, secreción de anticuerpos o de otras citoquinas; actuando sobre células diana que expresan en su membrana un receptor específico para cada tipo de citoquina (Curso de Inmunología , 2009). Los factores de crecimiento forman parte de uno de los tres mecanismos que poseen las células para interrelacionarse, siendo las principales los factores de crecimiento. Entre sus acciones

importantes, están en el mantener la sobrevivencia celular, iniciar la mitogénesis, estimulan la migración de las células producen cambios en los fenotipos que influyen en la invasión celular o la apoptosis (Brandan, 2002).

8. Genómica en la producción animal.

La selección genómica comenzó a ser implementada en la industria ganadera a nivel mundial, siendo esta aclamada como la revolución en la cría de animales, donde su principal énfasis ha sido la clasificación de los animales. Implementándose con una comprensión limitada del impacto en la ganancia en la carga genética, dicha predicción genómica ha sustituido las predicciones convencionales de mejoramiento, trayendo consigo tres beneficios. En primer lugar permite predecir los valores de selección en los candidatos, donde los valores incluyen información alélica. Segundo permite restringir las relaciones parentales para disminuir la endogamia. Tercero se puede utilizar para controlar las pérdidas de la variación genética a través de la deriva genética (Henryon, P.Berg, & A.C.Sorensen, 2014). Donde uno de los principales objetivos es apuntar a la utilización de las variaciones alélicas, aumentando cualitativamente como cuantitativamente la producción, pero para ello hay que tener en cuenta que las características de importancia económica son propiamente datos cuantitativos, pero para hallar estas diferencias alélicas o polimorfismo se han implementado técnicas que permitan evaluar el ADN, recientes estudios a partir del conocimiento del genoma bovino ha permitido el desarrollo de métodos moleculares, que han permitido identificar regiones cromosómicas como también la identificación de genes que han permitido determinar características asociadas a interés productivos (Marin, Cadavid, & Muñoz, 2013).

El mejoramiento genético tradicional se basa en la información del fenotipo y mediante el pedigrí, para determinar los valores de las crías, pero dichos valores deben ser capaces de tener mayor precisión mediante el uso de información sobre la variación en las secuencias de ADN entre los individuos. La selección genómica es una forma de selección asistida mediante el uso de marcadores genéticos que abarcan el genoma, que ayuden en la determinación de locus de un carácter cuantitativo (QTL), esto se ha llevado a cabo mediante la identificación de SNP descubiertos por la secuenciación del genoma, la estimación de valores genéticos ideal está dado en la obtención y enfocado en las secuencias para datos asociados SNP (Goddard & Hayes, 2007).

9. Mejoramiento genético animal.

El mejoramiento genético es la unión de diversos principios entre los que se vincula la biología, economía y principios matemáticos, con el fin de realizar una optimización y aprovechar al máximo todas aquellas variaciones y características genéticas que existe en una especie de animales, maximizando su características tanto fenotípicas como genotípicas (Valdenegro & Pérez, 1998).

La producción animal se deriva a partir de un conjunto de factores que ayuden a aumentar los procesos productivos, entre los cuales se encuentra la genética y el medio ambiente, además los altos estándares y/o niveles de producción que pueden ser alcanzados mediante el mejoramiento animal, vinculando los factores anteriormente mencionados, características genéticas y condiciones medio ambiente en el desarrollo del animal (Pereiro, 2008).

Dentro del mejoramiento genético cuantitativo es importante entrelazar la biología molecular, ya que partiendo de sus herramientas para el mismo análisis, permite el estudio hereditario de las diferencias genéticas de los individuos, siendo este el principal precursor del mismo mejoramiento ya sea cuantitativo o cualitativo, siempre desde el punto de vista de que el mejoramiento genético es un conjunto de procesos de selección, donde su principal objetivo es aumentar la frecuencia de genes que tiene algún efecto a partir de la combinación genética, las cuales pueden llegar a ser benéficas para la población cumpliendo con el principal objetivo e interés económico para el hombre (Raimundo Nonato Braga Lôbo & Lôbo, 2007).

Los parámetros genéticos transmiten información importante sobre la naturaleza genética a partir de diferentes características necesarias para el pronóstico de respuestas directas y correlaciones en la selección (José Ernandes Rufino de Sousa, 2006). Mientras que el potencial del individuo destinado a la selección puede ser determinado matemáticamente a partir del uso de técnicas genéticas cuantitativas, utilizando su información como “medidor” dependiendo de sus antecesores, descendientes y/o parientes, que ayuden a afianzar la identificación de los genes a evaluar, esto a partir de técnicas moleculares (Raimundo Nonato Braga Lôbo & Lôbo, 2007).

10. Polimorfismos.

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son aquellas alteraciones que se presentan con mayor frecuencia en el genoma, y proporcionan potentes herramientas para una variedad de estudios de genética médica (David G. Wang, 2007). El término de “polimorfismos” es utilizado de manera ambigua por los mismos genetistas, técnicamente al hacer referencia, a un locus

polimórfico es aquel donde el alelo tiene variaciones, tanto así que este llega a presentarse con menos del 99% de frecuencia en la población; De esta misma manera se puede realizar la asociación a SNP's (NJ Schorka, 2000).

El método más utilizado para la detección de SNP's es la secuenciación de ADN obtenido a partir de la amplificación por la técnica de reacción de cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés polymerase chain reaction), siendo este obtenido por varios individuos de una población, realizando el diseño y análisis de cebadores que permitan la amplificación de dicho fragmento específico de la secuencia de interés, estos pueden aparecer tanto dentro como fuera de un gen, cuando se encuentra fuera del gen no se verá afectando la expresión o función de la proteína (vet. unicen).

Actualmente la de detección de los SNP's incluye dos áreas primordiales: siendo la primera la secuenciación de ADN con polimorfismos desconocidos y la segunda se enfoca en la selección de individuos con polimorfismos conocidos a partir del análisis del genotipo, las "nuevas" tecnologías enfatizadas en la detección de SNP son aplicables para cualquier organismo viviente en la tierra, evolucionando mediante la adopción de métodos biológicos, fluorescentes, algoritmos e instrumentación analítica sensible, el descubrimiento se centra en descubrir todos, los SNP en las regiones de interés, partiendo de la secuenciación de ADN (Chen, 2003).

El polimorfismo surge como un resultado de una mutación, existen diferentes tipos de alteraciones o mutaciones, estos, dependiendo de su origen, el tipo de polimorfismo más simple resulta por la sustitución de un solo nucleótido por otra base nitrogenada, produciendo un cambio,

denominándose como polimorfismo de nucleótido simple “SNP”. Estos polimorfismos se encuentran a lo largo del genoma, ubicándose entre exones, intrones (este puede influir directamente sobre el empalme) y regiones intragénicas, en promotores o potenciadores, dicha alteración puede realizar una afectación funcional o fisiológica, ya que este cambio en la funcionalidad puede codificar a la modificación directamente sobre una proteína y este sobre su fenotipo (NJ Schorka, 2000).

Existen dos tipos de variaciones naturales, los cuales son de forma cuantitativa y variaciones genéticas, dentro de una población, dependiendo con la incidencia de la alteración se puede categorizar mutación rara cuando su incidencia es menor al 1%, pero si es mayor se denomina polimorfismo genético (Rodríguez, 2010).

11. Marcadores Moleculares y producción animal.

Los marcadores genéticos son pequeños fragmentos obtenidos a partir del ADN los cuales se encuentran ligados a una sección (Locus) del gen candidato a analizar dentro una región del genoma del individuo, esto puede aumentar el nivel de aplicación en diferentes áreas, permitiendo la identificación de genes, los que se relacionan con el aumento de características que pueden ayudar en la eficiencia selectiva del mejoramiento animal, el cual puede ser seleccionado por nacimiento para la expresión de características que se mostraran a lo largo del desarrollo (Raimundo Nonato Braga Lôbo & Lôbo, 2007).

La utilización de los Primer's o cebadores utilizados en la técnica de PCR, para la amplificación del fragmento que se desea analizar es importante la utilización de algunos compuestos que permitan realizar la visualización del producto obtenido, este llevándose a cabo en gel de agarosa, para ello, se da la adición de syber Green como marcador de fluorescencia, el cual se intercala entre las bases nitrogenadas, y al ser expuestas bajo los U.V estas tornan a un color verde que permite su visualización. De igual manera al momento de observar el producto final se realiza la adición un marcador de peso molecular, el cual servirá de indicador para determinar el tamaño del fragmento amplificado (Patrinos, 2010).

12. Técnicas de aplicación en la genética molecular animal.

PCR: La reacción en cadena de la polimerasa, es un método, desarrollado por Kary Mullis en la década de 1980. La PCR se basa en el uso de la capacidad de la ADN polimerasa para sintetizar una nueva cadena de ADN que sea complementaria a la cadena madre o cadena molde. Debido a que la ADN polimerasa puede agregar un nucleótido solo a un grupo 3'-OH, para ello se necesita un cebador al que pueda agregar el primer nucleótido. Este requisito permite delinear una región específica de secuencia de plantilla que se quiere amplificar. Al final de la reacción de PCR, la secuencia específica se acumulará en miles de millones de copias también denominándose como ampliaciones (NCBI , S.f).

SSCP: El proceso de SSCP implica amplificación por PCR del fragmento diana, desnaturalización del producto bicatenario con calor. Durante la electroforesis, los fragmentos de ADN se pliegan en una forma tridimensional dependiendo de su secuencia primaria. El método de SSCP se basa

en la observación de que en condiciones desnaturalizantes, los fragmentos de ADN, que incluso con una única alteración de la base puede dar como resultado un cambio conformacional, que puede detectarse mediante la movilidad alterada de la molécula de ADN monocatenario mediante esta técnica (Konstantinos, Panagiotis, Antonios, Agelos, & Argiris, 2008). Este método basado en las diferencias en la movilidad electroforética ha demostrado la utilidad de la existencia de diferentes formas de disposición de los fragmentos de ADN como método para el análisis de heterodúplex (Andreo & Catalina, 2013)

RFLP: los Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción; es una diferenciación en las secuencias homologas de ADN, que pueden ser detectadas a partir de fragmentos de longitudes diferentes, esto posterior a un proceso de digestión enzimática, mediante la adición de endonucleasas de restricción, siendo estas específicas. El RFLP es un marcador específico para una combinación de clon/ enzima de restricción única; la mayoría de estas son codominante (se logran detectar ambos alelos en muestras heterocigotas) y en locus específicos. Una sonda de RFLP es una secuencia de ADN marcada que se hibrida con uno o más fragmentos de la muestra de ADN digerida después de que se separaron mediante electroforesis en gel, revelando así un patrón de transferencia único característico de un genotipo específico en un locus específico (NCBI, s.f).

12.1. Tipos de Marcadores.

Existen diferentes tipos de marcadores moleculares, pero cada uno de ellos depende de la tecnología que se utiliza para determinar la variabilidad de ADN, estos también varían de acuerdo

a sus capacidad de detección de diferencias en individuos, el costo de aplicación, facilidad de uso, consistencia, capacidad múltiple (evaluación de diferentes locis simultáneamente); De igual manera los marcadores moleculares se pueden clasificar en tres: Citogenéticas, Bioquímicos, y basados en ADN, el cual se agrupa en dos; 1. Clonación; 2. Los de impresión única o huella digital genética (Ríos, Ruiz, & Castañeda, 2009).

- **Marcadores citológicos:** en la citología, las características estructurales de los cromosomas pueden mostrarse mediante el cariotipo cromosómico y las bandas. Los patrones de bandas, que se muestran en color, ancho, orden y posición, revelan la diferencia en las distribuciones de eucromatina y heterocromatina. Esto se utiliza no solo para la caracterización de cromosomas normales y la detección de mutaciones cromosómicas, sino que también se utilizan ampliamente en el mapeo físico y la identificación de grupos de ligamiento (Jiang, S.f).
- **Marcadores Bioquímicos:** Dentro de los marcadores bioquímicos se encuentran dos subtipos, uno de ellos son los marcadores bioquímicos de proteínas, en el cual su principio se basa en el uso de las proteínas de almacenamiento y diversidad genética, basada en el hecho de que las proteínas de diferentes individuo, población y especies son homologas, y que estas al ser expuestas en geles y al ser separadas producirán bandas similares o diferentes, ellas son detectadas en el gel por medio de técnicas generales de tñido. Por otro lado se encuentra los marcadores bioquímicos de isoenzimas, los cuales, presentan una sensibilidad a electroforesis, lo que hace, que la técnica sea utilizada y haya revolucionado en estudios de diversidad genética y en especies; Además una de las principales características de estas isoenzimas es su simplicidad, la cantidad mínima de material, bajo costo y una cobertura del 10 a 20 loci por especie; la expresión alélica es de

tipo codominante, permitiendo comparar especies, poblaciones de una misma especie (V. & C., 2000).

- **Marcadores basados en ADN:** Los marcadores basados en ADN, en teoría están diseñados para explorar toda la diversidad en secuencias de ADN existente bien sea en animales y plantas, de igual manera los marcadores basados en ADN más comúnmente utilizados son basados en fragmentos de ADN clonado y normalmente secuenciados, entre otros están para los polimorfismos genéticos, los cuales se pueden agrupar como marcadores de huellas dactilares (Dodgson, Cheng, & Okimoto, 1997).

13. METODOLOGÍA.

13.1. POBLACION

El presente estudio hizo parte de los macro proyectos investigativos, los cuales fueron desarrollados en la Universidad Nacional de Colombia, trabajo llevado en conjunto con las sedes ubicadas en Bogotá, Palmira y Córdoba, dichos proyectos titulados: “análisis genómico de poblaciones ovinas mediante el uso de un microarreglo de alta densidad asociado a características de crecimiento y calidad de la carne, con una aproximación a un sistema de clasificación de canales”. Y bajo el proyecto “evaluación genómica asociada a la calidad de carne de camuro criollo colombiano” durante el periodo de 2013 a 2014. De dicho proyecto se deriva la idea de realizar un estudio titulado “evaluación de polimorfismos de nucleótido simple asociados al crecimiento muscular en ovinos criollos colombianos”. La población destina al estudio estuvo conformada por 100 ovinos de pelo, ubicados en los la zona de Piedemonte llanero, animales de los Valles interandinos, y de Córdoba, los animales fueron criados en un sistema de producción

extensivo, con un régimen nutricional compuesto a base de pasturas de pasto Angleton (*Dichantium aristatum*), Para esto se emplearon los protocolos Rutinarios de manejo sanitario de ovinos, vacunando los animales de acuerdo a la prevalencia de enfermedades registradas en cada región.

13.2. MUESTRAS

Para la realización de este estudio se tomaron 100 muestras sanguíneas, cada una de ellas con un volumen 10 ml sangre total las cuales fueron extraídas y depositadas en tubos E.D.T.A, este tipo de tubos es especialmente utilizado para la conservación mediante el anticoagulante y protección de las células sanguíneas (Farmalatina, s.f.).

Una vez extraída la sangre de los animales se procedió a la rotulación de cada tubo, con los datos de los animales, tales como número de registro de la unidad productiva y procedencia, una vez rotulados las muestras fueron llevada y almacenadas en una nevera de icopor a -4°C para ser transportadas al laboratorio lugar donde se realizó su respectivo ingreso y procedimiento, una vez las muestras se encontraban en el laboratorio de Genética Molecular Animal, en la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, se llevaron a un temperatura de -20°C para su respectiva conservación hasta el momento en el cual fueran procesadas para la obtención de ADN

13.3. EXTRACCION ADN GENOMICO

La extracción de ADN se realizó a partir de la utilización de 200 μl de sangre, mediante la implementación del método de fenol cloroformo isoamil y lavado de la muestra mediante la

adición de T₁₀E₁₀ y agitación, una vez realizada la lisis de los glóbulos rojos, se realizó la lisis de los glóbulos blancos mediante la adición de la solución Saltin Out + 10 µl de proteínasa k y llevando las muestras a 56°C a baño María (Queen University , 2005). Una vez realizado el procedimiento de lisis de glóbulos blancos se procede a implementar el protocolo de limpieza con fenol y cloroformo isoamil, los cuales se manejaron en volúmenes iguales, para la respectiva precipitación del ADN extraído se utilizó NaCl [3M] + etanol frío, y se dejaron a -20°C por tres horas (G. W. Montgomery, 1990). Una vez precipitado el ADN se realiza la dilución con T₁₀E₁, Posteriormente se realizó la cuantificación del ADN mediante espectrofotometría, obtenidos los datos de absorbancia valores dados en nanómetros (260 nm y 280 nm) se realizó, la cuantificación de pureza en la relación 260/280 nm y de igual manera se calculó el factor de dilución obteniendo valores en nanogramos/microlitro (ng/µl), tal como lo expone Laura Patricia Alejos Velázquez. De igual manera se realizó el corrido del ADN por electroforesis, en gel de agarosa al 1,5%, a 100 Volteos por 30 minutos, utilizando la adición de marcador de fluorescencia Syber Green para así poder observar el ADN bajo exposición de luz U.V, confirmando la presencia de ADN genómico.

13.4. MARCADORES GENETICOS

Para el desarrollo del proyecto se utilizaron seis Primer's, los cuales fueron diseñados por investigadores del grupo de Genética Molecular Animal, para ser implementados en uno de los estudios citados anteriormente, estos Primer's fueron diseñados a partir de información que se encuentran en las bases de datos emmsabl genome browser y National Center for Biotechnology Information (NCBI), usando la secuencia de los genes IGF1 y GH de *Bos taurus*, estos genes candidatos fueron seleccionados por su asociación a características de crecimiento (Rosa, 2016;

Rodriguez, 2010; García, 2009). Teniendo en cuenta que los bovinos comparten muchas zonas del genoma se decidió utilizar estos marcadores en ovinos debido a la alta homología presente entre estas dos especies, las secuencias de cada marcador se exponen en la tabla 5.

Las muestras fueron amplificadas mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), técnica utilizada y aplicada en la biología molecular para realizar la amplificación de un fragmento de ADN, generando un millón de copias de la misma secuencia de ADN (Mohini Joshi, 2010), donde se ajustaron, la temperatura correcta de anillamiento, y de igual manera se determinó el volumen apropiado de $MgCl^{+2}$, una vez se ajustaron dichos parametros para cada marcador, se procedió a realizar el corrido de las 100 muestras de la población para cada uno de los marcadores postulados para el estudio.

TABLA 5: Secuencia de los iniciadores Forward y Reverse de los marcadores que se utilizaron en el presente estudio.

Marcador	Secuencia	Tamaño pb del fragmento	Autores
GH	F: 5'-GCCAGTGGTCCTTGCATAAA-3' R: 5'-CTGGAAGTCAAGTGGTGGG-3'	479	Grupo Genética Molecular Animal
IGF1ov1	F: 5'-CTGAGGGGAGCCAATTACAA-3' R: 5'-TGTGTTAGTGACAAGAGGAGCAG -3'	359	Grupo Genética Molecular Animal
IGF1ov2	F: 5'-TGCTCTAGTTTTTAAAATGCAAAGG'-3' R: 5'-TTTCTAAGCAGAAGCAAGCAG -3'	497	Grupo Genética Molecular Animal
IGF1ov3	F: 5'-CACACGATGGAAATCAGTGG-3' R: 5'-TGGAATATCAATTGGTTCCAGA-3	255	Grupo Genética Molecular Animal

13.5. GENOTIPIFICACION

Para la amplificación de las muestras se utilizaron termocicladores MULTIGENE. En donde se implementaron las siguientes condiciones: denaturación de iniciación 95°C por 5 minutos, 32

ciclos de denaturación a 95°C por 30 segundos, temperatura según corresponda al marcador a usar por 1 minuto y 30 segundos, (tabla 6), fase de elongación a 72°C por 1 minuto y posteriormente se lleva a una etapa de elongación final a 72°C durante 10 minutos. Dichos productos obtenidos se visualizaron en geles de agarosa al 2%, utilizando como marcador de fluorescencia Syber Green (Invotrogen, USA). De igual manera al momento de realizar la visualización de los productos amplificados se lleva a cabo la adición de un marcador de peso molecular Hyperladder, cuya utilización está dada para la determinación fácil del tamaño de fragmentos de ADN bicatenarios lineales en geles de agarosa.

Tabla 6: parametros de corrido de los Primer's utilizados

Estandarización Primer's en PCR	
Marcadores moleculares	temperatura de anillamiento
GH	53,2
IGFov1	56
IGFov2	53
IGFov3	55,7

Posteriormente se realizó la genotificación mediante el uso de la técnica PCR-SSCP, la cual consta de un método de detección de alteraciones en la secuencia genómica dentro de un loci, dichas alteraciones son producto de los cambios conformacionales en la cadenas de ADN, evidenciando los diferentes alelos en una membrana de poliacrilamida. A los fragmentos de PCR obtenidos, se les adiciona 12 ul de buffer de carga para acrilamida, la mezcla se denaturo a 95°C por 5 minutos

y se lleva a refrigeración a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos, posteriormente al proceso de desnaturalización las hebras sencillas de ADN adoptan una forma tridimensional, mostrando así una única estructura (Patrinos, 2010). Para ello se lograron estandarizar los geles para seis marcadores, dichos marcadores se lograron amplificar en geles de poliacrilamida 59:1 acrilamida-bis acrilamida en una concentración 10X, ajustándose un tiempo de corrido específico para cada uno, y tiñéndose con nitrato de plata. Dentro de dichos marcadores propuestos se encontraron diferentes patrones de bandeo en las muestras lo cual indica que son polimórficas, las bandas obtenidas fueron designadas con las letras A y B, y de acuerdo a la presencia de las bandas en cada individuo se identificaron las diferentes combinaciones genéticas (AA, AB, BB) de acuerdo a la presencia y posición de los alelos.

13.6. ANALISIS ESTADISTICO

Durante el estudio se determinaron las frecuencias alélicas, frecuencias genotípicas, heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observada (H_o), Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), y coeficiente de endogamia (F_{is}). Utilizando el software GenAlex.

RESULTADOS Y DISCUSION.

I. Cuantificación de ADN.

El ADN extraído a partir de sangre de los ovinos criollos Colombianos, se encontró en óptimas condiciones, para determinar sus concentraciones.

Para determinar la presencia de ADN, se realizó por la visualización en geles de agarosa al 1.5% con adición de Syber Green y un marcador de peso molecular, Hyperladder V, con el cual se puede estimar el peso del producto y la concentración mediante la luminosidad obtenida, para los ADN extraídos en este proyecto se observa una concentración promedio de 80 a 120ng/band (ver figura 10).

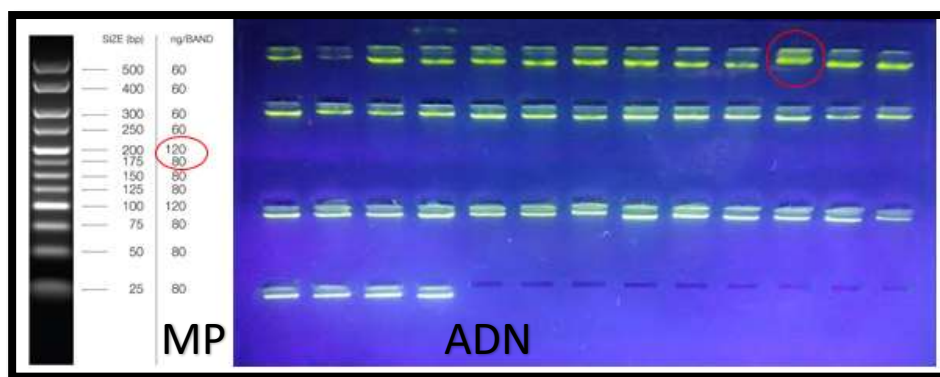


Figura10: Gel de agarosa en concentración de 1.5%, visualización y cálculo aproximado de concentración en ng/Banda, costado izquierdo MP: marcador de peso molecular, costado derecho ADN

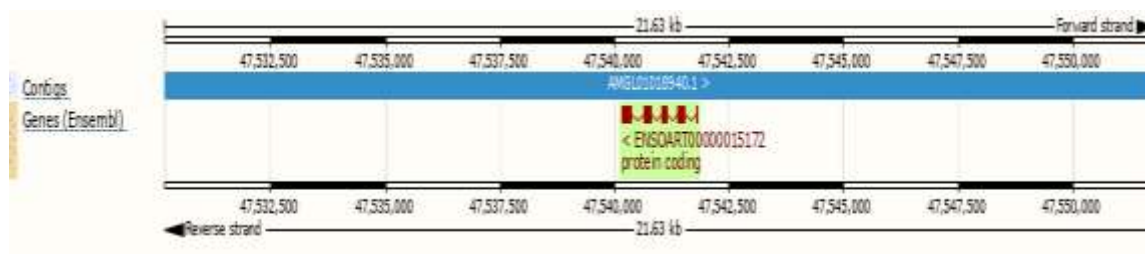
Teniendo en cuenta que los marcadores moleculares seleccionados son diseñados a partir de las secuencia del genoma del *bos Taurus*, se procedió a buscar determinar homología de los marcadores en el genoma ovino, para ello se hizo el uso de la herramienta bioinformática BLAST perteneciente a la base de datos NCBI, dando como resultado un empalme total de los primers GH, IGF1ov1, IGF1ov2, IGF1ov3 de bovinos en las secuencias del genoma de ovinos.

II. Genotipificación.

Hormona del crecimiento.

En los ovinos este gen se encuentra ubicado en el cromosoma 11 y cuenta con 5 exones, con una longitud de 1,958 pares de bases (NBCI, S.f). En estudios realizados por varios autores han reportado asociación de este gen a características productivas por ser uno de los principales reguladores del crecimiento (Supakorn, 2007; Balia, Garippa, & Vacca, 2011-2012; Ivan F. Gorlov, y otros, 2017) (figura 5).

Figura 5: Estructura y ubicación del gen GH ovino. Cromosoma 11 ovino cuadros rojos son los exones (5), longitud del gen 1,958 pb (Ensembl, 2017)



Este marcador está ubicado entre el intron 1, exón 1 e intron 2. Mediante la PCR se logró amplificar exitosamente un fragmento de 479 pb, para comprobar la correcta amplificación del producto este fue corrido por electroforesis de agarosa usando del marcador Hyperladder V (Imagen 6). De acuerdo a la ubicación de los Primer's es importante realizar una secuenciación, de los productos, debido a que no se conoce si al estar ubicado el marcador entre estas zonas (intrones y exones), exista una posible mutación que afecta la funcionalidad o expresión del gen.

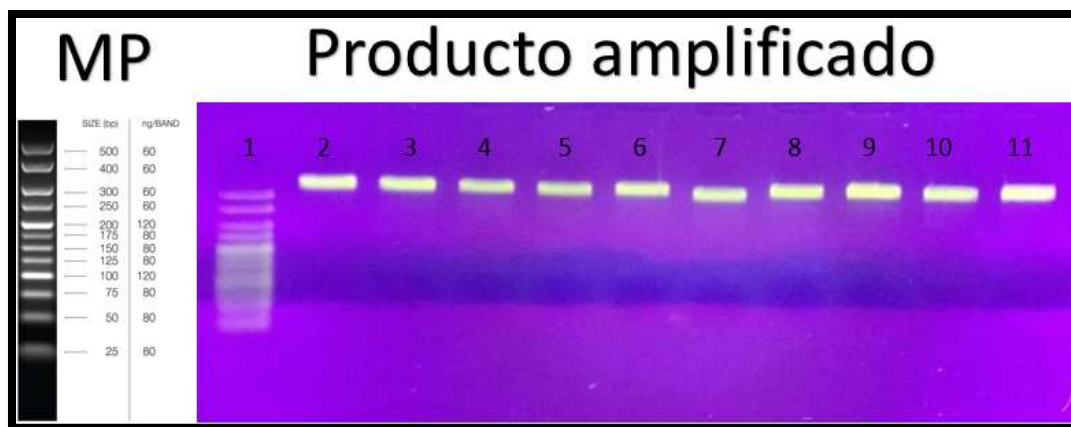


Figura 6: Gel de agarosa al 2% para el marcador GH, carril 1 marcador de peso molecular, del carril 2 al 11 producto obtenido de la amplificación.

Una vez obtenida una amplificación positiva se procede a realizar el proceso de genotipificación de las muestras para la identificación de cambio o modificaciones en las secuencias de ADN. Los productos de PCR de GH fueron corridos en geles de poliacrilamida a una concentración de 59:1 10X, logrando observar la presencia de tres patrones de corrido, denominándolos como genotipo AA, AB y BB. (Ver figura 7). Una vez obtenidos dichos los alelos se procede a realizar el análisis de las frecuencias alélicas para la población.

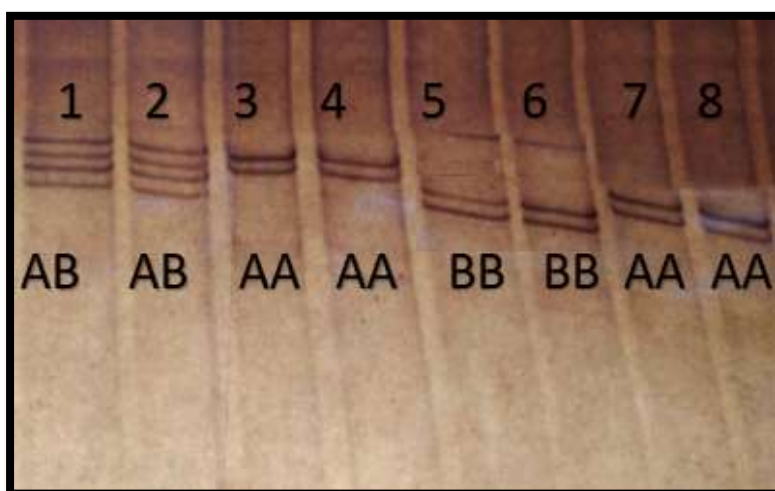


Figura 7: Gel de poliacrilamida genotipos del marcador GH; carril 1 y 2, genotipo AB; carril: 3, 4, 7, 8 genotipo AA; carril: 5 y 6, genotipo BB.

Una vez obtenidos los genotipos para la totalidad de la población se procedió a la determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas. Para el marcador GH en la población en general, la frecuencia del alelo A (58,6%) fue mayor que la del alelo B.

En cuanto a las frecuencias genotípicas se presentó una frecuencia genotípica del 64,6% de heterocigotos mientras que para la población general el genotipo BB fue el que obtuvo menor incidencia en la población.

Así mismo los análisis de frecuencias genotípicas y genéticas fueron determinadas teniendo en cuenta las tres diferentes zonas de procedencia de los individuos, donde se encontró que en la población de valles interandinos, el alelo A está presente con mayor frecuencia en comparación a las otras poblaciones, mientras que en la población de Córdoba se encontró menor incidencia a este alelo (Ver tabla 7), la diferencia de los valores obtenidos se ve influenciados principalmente por los planes de mejoramiento y de reproducción a los que los individuos están sometidos a endogamia, de esa manera aumenta en la población la cantidad de individuos heterocigotos.

Tabla 7: determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador GH, en la población de manera general y para cada población, Valles interandinos, Córdoba, Piedemonte llanero, y por tipo de alelo (A y B)

Frecuencia alélica en la población en general

Marcador	Frecuencia alélica		Frecuencia genotípica		
	A	B	AA	AB	BB
GH	58,59	41,41	26,3	64,6	9,1

Frecuencia alélica en cada población

Alelo	Valles interandinos	Córdoba	Piedemonte llanero
A	0,675	0,478	0,556
B	0,325	0,522	0,444

El equilibrio genético busca determinar los Valores de Heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, de acuerdo al ponderado el equilibrio de Hardy-Weinberg o también conocido como panmítico, es un modelo teórico para la genética de poblaciones. Este concepto de equilibrio de Hardy-Weinberg se basa en las siguientes hipótesis:

1. La población es panmítica (todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse y el apareamiento es al azar.
2. La población es suficientemente grande (para minimizar las diferencias existentes entre los individuos)

3. La población no está sometida a migración, mutación o selección (no hay pérdida ni ganancia de alelos).
4. Las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de generación en generación.

Bajo estos parámetros se llega a la determinación si una población se encuentra o no genéticamente en equilibrio (Kalmes & Huret, 2001).

Para la evaluación de la población para el marcador GH se evaluó mediante la prueba de X^2 , se estimaron los valores de heterocigosidad esperada (h_e) y observada (h_o) y el índice de fijación (Fis) (tabla 8) respecto a la prueba de X^2 se obtuvo un valor de 10,92, demostrando que la población para el Marcador de GH no se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg, lo que quiere decir que de acuerdo a los postulados, muy probablemente los animales han estado sometidos a cruces de individuos emparentados, por lo tal no existe selección natural o reproducción al azar, y existen factores que producen mutaciones génicas en los individuos. En algunos casos muy comunes en las en las producciones ovinas en colombianas, se presenta el cruce entre animales emparentados, debido a que la mayoría de los productores bien sea el pequeño o mediano productor, no cuentan con los recursos necesario para poder implementar otros planes de mejora y reproducción con animales que no tenga familiaridad, ya que eleva los costos en la producción la adquisición de nuevos ejemplares. Debido a esto los cruces que se manejan en las poblaciones son de animales nacidos y criados dentro de la misma producción.

Para el marcador GH en la población general el valor de Fis. Es de -0,367 con una correlación de ($p < 0,001$) siendo altamente significativa, lo que quiere decir que el nivel de endogamia en general es alto de entro la población produciendo así más individuos heterocigotos, en cambio en la población de Córdoba, se obtuvo un valor de -0,394 y en la población del piedemonte llanero fue

de -0,238, fueron valores no significativos debido a la cercanía del valor ideal (0) de la prueba, lo que quiere decir que las población no significativa cuenta con un nivel de animales homocigotos y heterocigotos es proporcional entre ellos, en cambio los resultados obtenidos para la población perteneciente a los valles interandinos -0,481, obtuvo un nivel de significancia de ($P < 0.01$) que la población cuanta con una tendencia a animales heterocigotos que homocigotos, pudiendo decir que la proporción es semejante entre la población.

Tabla 8: Valores de Heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

<i>Valores obtenido para la población en general</i>						
<i>Población</i>	Locus	Ho	He	Fis	X²	Significancia
<i>General</i>	GH	0,64	0,485	-0,367	10,926	***
<i>Valores obtenido para cada una de las poblaciones</i>						
<i>Población</i>	Locus	Ho	He	Fis	X²	Significancia
<i>Valles interandinos</i>	GH	0,650	0,439	-0,481	9,273	**
	<i>Córdoba</i>	0,696	0,499	-0,394	3,569	ns
	<i>Piedemonte llanero</i>	0,611	0,494	-0,238	2,031	ns

Grados de libertad (número de alelos -1), niveles de significancia: ns=no significativo, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, (Ho) Heterocigosidad observada, (He) Heterocigosidad esperada, índice de fijación (Fis) y prueba de chi-cuadrado (X²).

En comparación el gen GH en bovinos es relativamente pequeño pero con una gran variedad de efectos en el organismo, lo que ha motivado y facilitado su estudio. Se encuentra ubicado en el cromosoma 19, tiene una longitud aproximada de 2856 pb, existen reportados aproximadamente siete polimorfismos en este gen en bovinos, aunque en su gran mayoría estos se encuentran en zonas no codificantes (García, 2009).

La hormona del crecimiento en Bovinos bGH, al igual que todos los mamíferos es de suma importancia para el crecimiento postnatal; en un estudio realizado, se utilizaron Primer's con los

cuales presentaba una homología entre especies ovino y bovino (dicha homología del primer se presentó en el actual estudio, y en otro estudio realizado), donde en dicho trabajo se logró identificar mutaciones, las cuales están presentes en la región promotora y en el exón quinto (5 exón), la región promotora, las mutaciones detectadas se localizan en las posiciones 253, 303 y 313, identificándose la sustitución de una Citosina por una Timina en cada una de las posiciones indicadas, mientras que en el quinto exón, se registró el cambio de un aminoácidos en la posición 127 del péptido conformado, donde el cambio de aminoácido consistió entre una leucina y una valina, produciendo que los animales tuviesen un bajo peso corporal y una baja ganancia de peso; En el estudio en bovinos realizado por Supakorn, 2007 se determinaron tres alelos, los que fueron designados, A2, B2 y C2 respectivamente, en ello encontraron que la mutación ubicada en la posición del nucleótido 670 estaba dado por una transversión de Timina a Guanina y de Timina a Citosina. debido a que en el genotipo homocigoto A2A2 se tenía como base la Timina, en la posición mencionada anteriormente, mientras que en el genotipo heterocigoto A2C2 se encuentra una sustitución de una Timina a Citosina, en la misma posición, encontrando que los animales con el alelo A2 obtuvieron un mejor crecimiento en comparación a los individuos con el alelo B2.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se encontró que existían mayor frecuencias genotípicas con un 64,6 % de heterocigotos en el genotipo AB, en cuanto a la frecuencia alélica se observa que el alelo A tiene un 58,59%, en comparación al estudio realizado por Supakorn, donde su población era de bovinos, expone que existía mayor frecuencia genotípica en la población con genotipo A2A2 con un valor del 90.0 % y en la frecuencia alélica del 95% en el alelo A, esta diferencia puede estar dada a la existencia entre las especies, aunque siendo estas homologas comparte regiones muy conservadas entre estos dos.

En otro estudio en el que se determinaron la presencia de polimorfismos en el gen del crecimiento en ovinos mediante la técnica SSCP, se evaluaron varios fragmentos de las regiones no traducidas (UTR) del gen, en 5'UTR (fragmento I), los exones 1-5 (fragmentos II-VI) y 3'UTR (fragmento VII), donde dos fragmentos VI y VII se caracterizaron por la presencia de 5 patrones con las mismas frecuencias, a través, de secuenciación se mostró la presencia de dos SNP en los dos fragmentos (VI y VII) ya mencionados, esto en la posición 2655 y 2678, ubicados en una región en que los dos fragmentos tienen en común, determinándose que los patrones denominados como A y D tenían combinaciones de genotipo homocigoto, Pero dicha mutación encontrada no tiene ningún efecto sobre la proteína (Balía, Garippa, & Vacca, 2011-2012).

Aunque hasta ahora se han logrado detectar algunos polimorfismos en pequeños rumiantes asociados al gen de GH, actualmente no se cuenta con publicaciones de estudios de polimorfismo asociados al crecimiento y parametros biométricos (Ivan F. Gorlov, y otros, 2017).

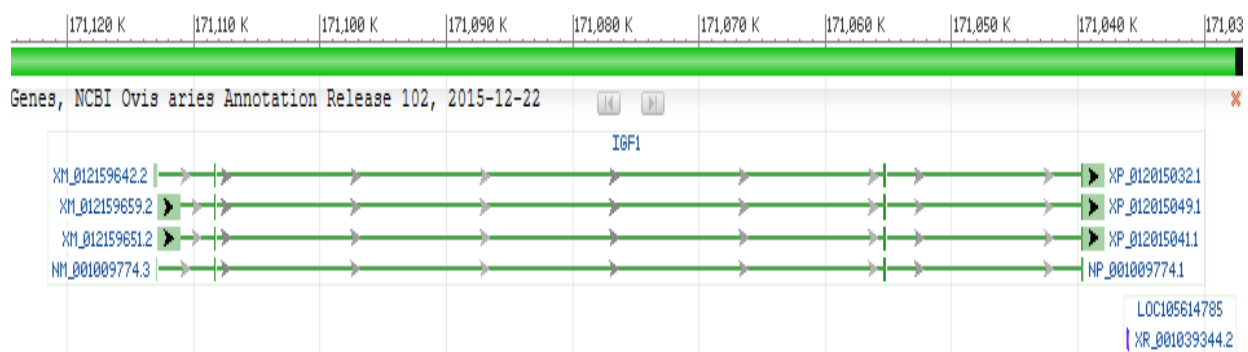
De acuerdo a los sustentado anteriormente este estudio juega un papel muy importante ya que permitió determinar la existencia de lo polimorfismos que se asocian al crecimiento, parámetro de suma importancia, pero de igual manera se debe realizar un proceso de secuenciación para determinar cuál es la modificación específica que se presenta en el marcador, perteneciente al gen GH, con ello se permitirá asociar directamente y evaluar el efecto sobre la expresión del gen.

Factor insulínico de crecimiento

El Factor insulínico de crecimiento tipo 1 (IGF-1) en los ovinos se encuentra ubicado en el cromosoma 3, cuenta con una cantidad de 5 exones, y con una longitud de 4,132 pb (Ver figura 8) (NCBI, S.f). En estudios realizados por diferentes se han reportado la asociación y el efecto como mediador y regulador en el crecimiento y las similitud que este posee en diferentes especies

(Francis, Kerrie A. Mcneil, Ballard, & Owens, 1989; Thissen & Underwood, 1994; J. N. He, y otros, 2012; Lateulade & Lago, 2012).

Figura 8: Estructura y ubicación del gen IGF-I ovino. Cromosoma 3 del ovino. (NCBI, 2017)



Dentro del gen IGF-1 se han utilizado tres marcadores diferentes, denominados en el actual estudio como IGF1ov1, IGF1ov2, IGF1ov3.

Marcador IGF1ov1

Dentro del gen IGF-1 en el genoma del ovino, se seleccionó el marcador IGF1ov1, ubicado en el intron 1, de la región perteneciente del gen, mediante la aplicación de la técnica de PCR fue amplificado correctamente un fragmento de 359 pb, para poder contemplar la correcta amplificación del producto se procede a realizar un corrido electroforético mediante un gel de agarosa usando el marcador de peso molecular Hyperladder V. y exponiendo este a luz U.V para poder visualizar las bandas obtenidas de la amplificación (figura 9)

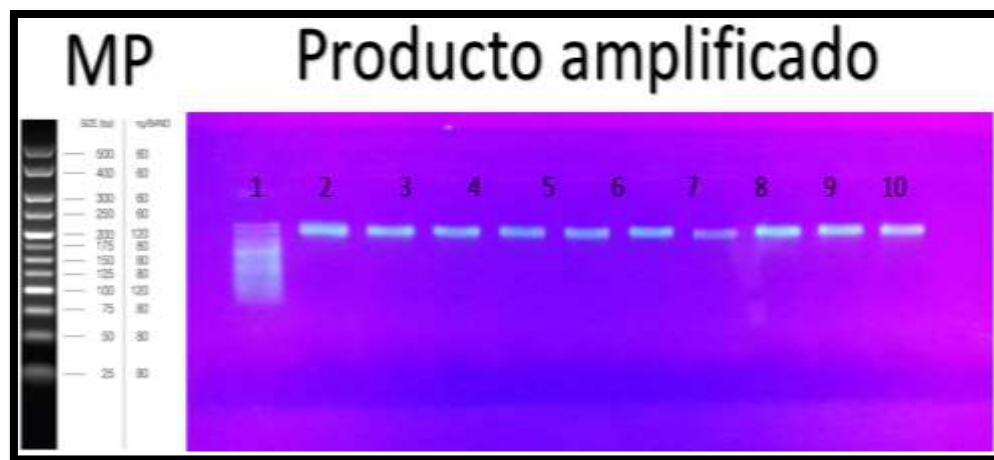


Figura 9: Gel de agarosa al 2% para el marcador IGF1ov1, carril 1 marcador de peso molecular Hyperladder V, del carril 2 al 10 producto obtenido de la amplificación.

Tan pronto se ha obtenido una amplificación positiva se procede a realizar la genotipificación de las muestras para lograr visualizar y determinar los cambios obtenidos en las secuencias de ADN, los productos para el marcador IGF1ov1, se corrieron en geles de poliacrilamida a una concentración de 59:1 10X, logrando observar la presencia de tres modelos de corrido, denominándolos como genotipo AA, AB y BB. (Ver figura 10) una vez obtenidos dichos los alelos se procede a realizar el análisis de las frecuencias alélicas para la población (ver tabla 9 y tabla 10).

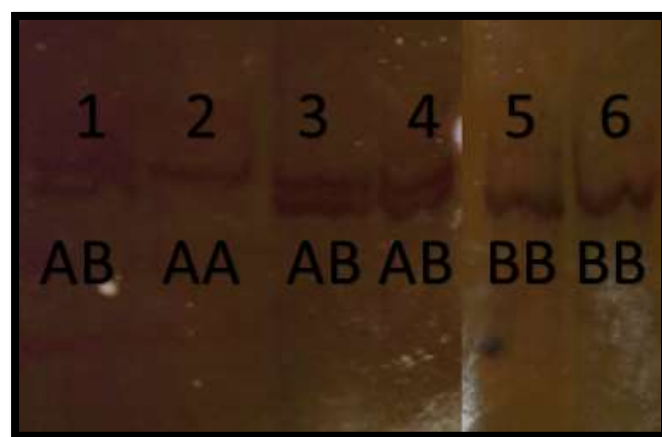


Figura 10: Gel de poliacrilamida genotipos del marcador IGF1ov1; carril: 1, 3 y 4 genotipo AB; carril: 2 genotipo AA; carril: 5 y 6, genotipo BB

Una vez realizado el proceso de genotipificación en la población total se procede a realizar la evaluación de las frecuencias alélicas y genotípicas, encontrando que en la población general, para el marcador IGF1ov1, se obtuvo mayor frecuencia del alelo B (63%), siendo este mayor que en comparación al alelo A.

Mientras que para la frecuencia genotípica encontrándose que el 57% de la población es heterocigota.

En comparación para el análisis de las frecuencias alélicas, de las tres poblaciones postuladas para el presente estudio, donde se encontró que en la población de valles interandinos, el alelo B cuenta con mayor frecuencia en comparación a las otras poblaciones, mientras que la frecuencia A de la población localizada en el piedemonte llanero, tuvo la frecuencia más baja (tabla 9).

Los valores presentan una diferencia debido a que cada sistema de producción se rige bajo parámetros de selección diferentes, utilizando animales de la misma producción como reproductores lo que aumenta el porcentaje de animales que posean ambos genotipos (heterocigotos), pero también es de suma importancia tener en cuenta, que la población del alelo A se encuentra en una menor proporción lo cual, en un futuro se llevara un proceso de deriva genética del alelo A, afectando la población debido a la ausencia de este alelo.

Tabla 9: determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador IGFov1 en la población de manera general y para cada población, Valles interandinos, Córdoba, Piedemonte llanero, y por tipo de alelo (A y B)

Frecuencia alélica y genotípicas en la población en general

<i>Marcador</i>	Frecuencia alélica		Frecuencia genotípica		
	A	B	AA	AB	BB
<i>IGF1ov1</i>	36,87	63,13	8,08	57,58	34,34

Frecuencia alélica en cada población

<i>Alelo</i>	Valles interandinos	Córdoba	Piedemonte llanero
A	0,415	0,348	0,329
B	0,585	0,652	0,671

La evaluación de la población del marcador IGF1ov1, se realizó mediante la prueba de X^2 , para ellos se estimaron los valores de H_o , H_e , y F_{is} (ver tabla 10), aplicando la prueba de X^2 se obtuvo un valor de 5,552, demostrando que la población para el Marcador de IGF1ov1, no se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg. Lo que indica que la población está sometida a una reproducción restringida entre individuos consanguíneos, de igual manera se contempla la existencia de factores que producen mutaciones génicas en los individuos.

Para el marcador IGF1ov1, en la población general el valor de F_{is} es de -0,298 con una correlación de ($p < 0,05$) siendo significativamente baja, determinándose que el grado de endogamia en la población no es tan elevada para animales homocigotos, en comparación a la proporción presente de heterocigotos. Así mismo los valores obtenidos para cada una de las poblaciones, de valles

interandinos 0,096 fue un valor no significativos debido a la cercanía del valor ideal, en la población ubicada en Córdoba el valor de -0,533 ($p < 0,05$), determinándose que el grado de endogamia en la población no es tan elevada para animales homocigotos, y es significativamente bajo. Por ultimo para la población del piedemonte llanero con un valor de -0,489, medianamente significativo ($p < 0,01$), refiriéndose que la población cuanta con una tendencia a animales heterocigotos que homocigotos semejantes entre sí.

De acuerdo a los valores y el análisis realizado es importante realizar un proceso de secuencia del marcador, para así poder determinar el grado de asociación a los polimorfismos identificados en el genoma del ovino en este estudio. De igual manera dichos polimorfismos se pueden asociar a la función que cumple este gen y su relación con GH, debido a que el gen del IGF-1 realiza un proceso de biosíntesis y de transporte de aminoácidos al musculo y que regula la acción del GH en las células dianas localizadas en la periferia a nivel muscular.

Tabla 10: Valores de Heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

<i>Valores obtenido para la población en general</i>						
<i>Población</i>	Locus	Ho	He	Fis	X²	Significancia
<i>General</i>	IGF1ov1	0,576	0,466	-0,298	5,552	*
<i>Valores obtenido para cada una de las poblaciones</i>						
<i>Población</i>	Locus	Ho	He	Fis	X²	Significancia
<i>Valles interandinos</i>	IGF1ov1	0,439	0,485	0,096	0,375	ns
<i>Córdoba</i>		0,696	0,454	-0,533	6,542	*
<i>Piedemonte llanero</i>		0,657	0,441	-0,489	8,382	**

Grados de libertad (número de alelos -1), niveles de significancia: ns=no significativo, * $P < 0,05$,

** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, (Ho) Heterocigosidad observada, (He) Heterocigosidad esperada,

índice de fijación (Fis) y prueba de chi-cuadrado (X²).

Marcador IGF1ov2

El marcador IGF1ov2, ubicado en el intron 1, exón 1 e intron 2, de la región perteneciente del gen IGF-1, mediante la técnica de PCR se amplificó un fragmento con una longitud de 497 pb, para la visualización del producto final se corrieron 5ul de producto de PCR en electroforesis de agarosa, con la implementación de un marcador de peso molecular Hyperladder II (ver figura 11).



Figura 11: Gel de agarosa al 2% para el marcador IGF1ov2, carril 1 marcador de peso molecular Hyperladder V, del carril 2 al 11 producto obtenido de la amplificación.

Una vez amplificado el producto PCR y visualizado en gel de agarosa se procede a realizar el proceso de genotipificación de las muestras determinando la presencia de los cambios obtenidos en las secuencias de ADN de los individuos, los productos del marcador IGF1ov2, fueron sometidos a corrido electroforético, en geles de poliacrilamida a una concentración de 59:1 10X, logrando observar la presencia de tres alelos, denominándolos como genotipo AA, AB y BB. (Ver figura 12) una vez obtenidos dichos los alelos se procede a realizar el análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas para la población (ver tabla 11).

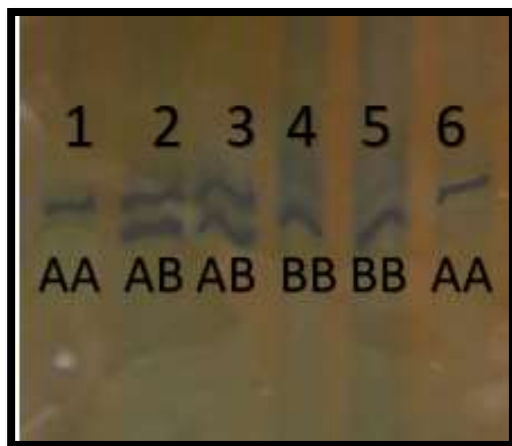


Figura 12: Gel de poliacrilamida genotipos del marcador IGF1ov2; carril 1 y 6, genotipo AA; carril 2 y 3, genotipo AB; carril 4 y 5, genotipo BB.

Cuando se ha realizado la genotipificación en la población para el marcador IGFov2, se procede a determinar las frecuencias alélica y genotípicas, donde en la población general, los valores para el alelo A, la población perteneciente a Valles Interandinos tiene mayor frecuencia para el alelo A, encontrándose sobre 53%, mientras que la frecuencia de B está en el 46% de la población.

Referente al genotipo el 90% de la frecuencia es para los individuos heterocigotos AB, y con el 1% para el genotipo homocigoto BB, de igual manera los valores obtenidos en los individuos muestra que la población se “acerca” a un proceso de deriva génica, por pérdida de alelo en la población, con ello se sugiere tomar una población más representativa de la zona y realizar estudios que permitan tener un análisis más verídico.

Mientras que las frecuencias comparadas entre las poblaciones, de Córdoba y Piedemonte llanero, se encuentran en las mismas proporciones tanto para el alelo A como para el alelo B, determinándose que una población es a simple vista homogénea referente a su carga genética, mientras que la población perteneciente a valles interandinos presenta mayor frecuencia para el alelo A.

Tabla 11: determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador IGF1ov2 en la población de manera general y para cada población, Valles interandinos, Córdoba, Piedemonte llanero, y por tipo de alelo (A y B)

Frecuencia alélica en la población en general

<i>Marcador</i>	Frecuencia alélica		Frecuencia genotípica		
	A	B	AA	AB	BB
<i>IGF1ov2</i>	53,76	46,24	8,60	90,32	1,08

Frecuencia alélica en cada población

<i>Alelo</i>	Valles interandinos	Córdoba	Piedemonte llanero
<i>A</i>	0,585	0,500	0,500
<i>B</i>	0,415	0,500	0,500

Para el marcador IGF1ov2, El equilibrio genético de la población se evaluó mediante la prueba de χ^2 , se estimaron los valores de heterocigosidad esperada (h_e) y observada (h_o) y el índice de fijación (Fis) (tabla 12) utilizando la prueba de χ^2 se obtuvo un valor de 62,038, demostrando que la población no se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg. Lográndose deducir que la población está sometida a procesos de reproducción no al azar, y posiblemente esta cuenta con deriva genética, no cumpliendo con los postulados requeridos para que una población esté en equilibrio.

En el marcador IGF1ov2 se determinó que para la población general el valor de Fis. Es de -0,872 con una correlación de ($p < 0,001$) siendo significativamente alta, determinándose que el grado de

endogamia en la población es tan elevada que su conformación casi en la totalidad es de animales heterocigotos, en comparación a la proporción de individuos homocigotos.

De acuerdo a los resultados establecidos en la tabla 12. El valor obtenido para la población de córdoba es -1,000 con un valor $p < 0.01$ siendo este medianamente significativo, interpretando que la población tiene una tendencia de tener mayor número de individuos heterocigotos que homocigotos, en cambio los valores fueron altamente significativos para la correlación del marcador con un valor de -0,608, en la población de valles interandinos y para la población de piedemonte llanero con un valor de -1,000, determinado con ($p < 0.001$), donde la mayor parte casi en su totalidad es heterocigótica, dichos valores obtenidos apunta a que los sistemas de producción, manejan un grado de endogamia alto, posiblemente esto asociado al manejo reproductivo y de selección reproductores, que poseen parentesco entre ellos.

Tabla 12: Valores de Heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

<i>Valores obtenido para la población en general</i>						
<i>Población</i>	Locus	Ho	He	Fis	X²	Significancia
<i>General</i>	IGF1ov2	0,903	0,497	-0,872	62,038	***
<i>Valores obtenido para cada una de las poblaciones</i>						
<i>Población</i>	Locus	Ho	He	Fis	X²	Significancia
<i>Valles interandinos</i>	IGF1ov2	0,780	0,485	-0,608	15,148	***
<i>Córdoba</i>		1,000	0,500	-1,000	18,000	**
<i>Piedemonte llanero</i>		1,000	0,500	-1,000	34,000	***

Grados de libertad (número de alelos -1), niveles de significancia: ns=no significativo, * $P < 0.05$,

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, (Ho) Heterocigosidad observada, (He) Heterocigosidad esperada,

índice de fijación (Fis) y prueba de chi-cuadrado (X²).

Marcador IGF1ov3:

El gen IGF-1 se encuentra conformado por diferentes regiones, en el caso del marcador IGF1ov3, que se encuentra ubicado en la transcripción de la variante X3 mRNA, del mismo. Este fue corrido mediante la técnica de PCR, obteniendo un fragmento de 298 pb, con el uso del marcador Hyperladder V, se realizó la visualización del tamaño de este (figura 13).

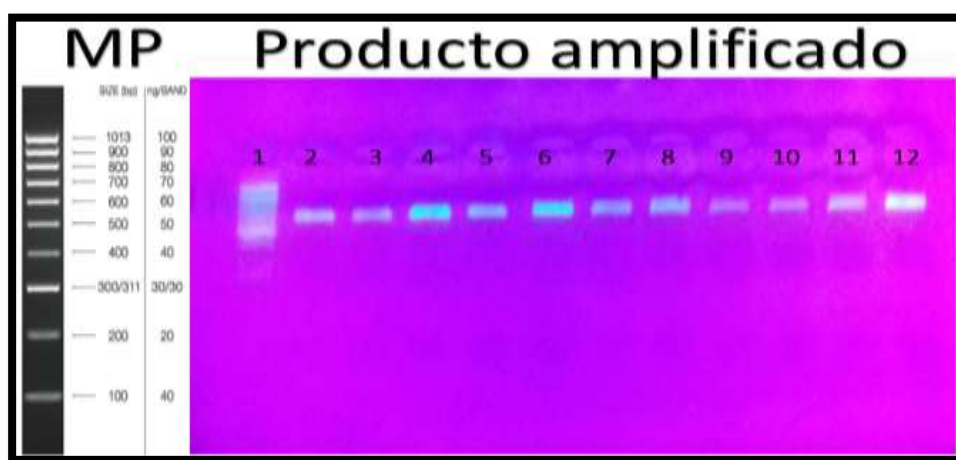


Figura 13: Gel de agarosa al 2% para el marcador IGF1ov3, carril 1 marcador de peso molecular Hyperladder II, del carril 2 al 12 producto obtenido de la amplificación.

Cuando se ha confirmado la amplificación positiva para las muestras, se efectúa la genotipificación de las muestras, para lograr realizar la identificación los cambios en la secuencias de ADN, los productos del marcador IGF1ov3, fueron corridos en geles de poliacrilamida a una concentración de 59:1 10X, logrando observar la presencia de los tres alelos, denominándolos como genotipo AA, AB y BB. (Ver figura 14) una vez obtenidos dichos los alelos se procede a realizar el análisis estadístico para la población.

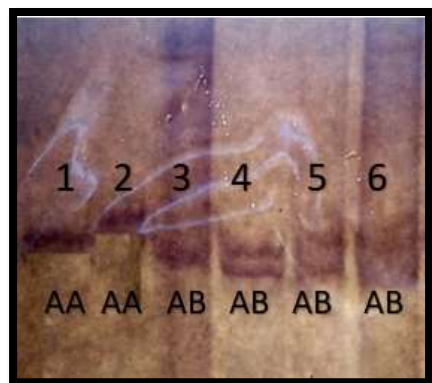


Imagen 14: Gel de poliacrilamida genotipos del marcador IGF1ov3; carril: 1 y 2, genotipo AA; carril 3 y 4 genotipo AB.

Una vez se ha realizado el proceso de genotipificación de las muestras de las poblaciones se procede a realizar la evaluación de las frecuencias alélicas y genotípicas, encontrando que en la población general de acuerdo a la tabla 13, Para el marcador IGF1ov3, la frecuencia del alelo A fue mayor que la del alelo B, encontrándose por encima del 56% el alelo A, con una incidencia en de la frecuencia genotípica del 57% para individuos heterocigotos.

En términos generales para la población el genotipo BB fue el que no obtuvo ninguna incidencia en la población, esto posiblemente se ve asociado a directamente al manejo realizado en los planes de mejora, lo cual ha llevado a la deriva génica en la población estudiada.

En comparación para el análisis de las frecuencias alélicas de las tres zonas, se encontró que en la población de Córdoba, el alelo A obtuvo mayor frecuencia en comparación a las otras poblaciones, mientras que en la población de piedemonte llanero se encontró que la incidencia entre el alelo A y B eran semejantes, lo que quiere decir que la población cuenta con una población homogénea, debido a la proporción semejante de alelos, lográndose deducir que la población ubicada en la zona de piedemonte llanero cumple con ciertas características de manejo y reproducción, manteniendo una proporción de endogamia equitativa.

Tabla 13: determinación de las Frecuencias Alélicas, para el marcador IGFov3 en la población de manera general y para cada población, Valles interandinos, Córdoba, Piedemonte llanero, y por tipo de alelo (A y B)

Frecuencia alélica en la población en general

<i>Marcador</i>	Frecuencia alélica		Frecuencia genotípica		
	A	B	AA	AB	BB
<i>IGF1ov3</i>	56,81	43,18	9	57	0

Frecuencia alélica en cada población

<i>Alelo</i>	Valles interandinos	Córdoba	Piedemonte llanero
<i>A</i>	0,549	0,614	0,500
<i>B</i>	0,451	0,386	0,500

Para la población destina al estudio con el marcador IGF1ov3, se calculó El equilibrio genético de la población se evaluó mediante la prueba de X^2 , se estimaron los valores de heterocigosidad esperada (h_e) y observada (h_o) y el índice de fijación (F_{is}) (tabla 14) respecto a la prueba de X^2 se obtuvo un valor de 38,122, demostrando que la población para el marcador no se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg. Infiriendo que la población no cuenta con reproducción al azar, y posiblemente esta cuenta con deriva genética, y/o que no se cuenta con una población lo suficientemente grande para el cumplimiento de los postulados requeridos para que una población esté en equilibrio.

En cuanto para la población general el valor de Fis. Es de -0,504 con una correlación de ($p < 0,001$) siendo significativamente alta, determinándose que el grado de endogamia es alta dentro de la población, confirmando la gran presencia de un porcentaje alto de animales heterocigotos.

De acuerdo a los valores obtenidos entre las zonas, la población del piedemonte llanero con un valor de -0,111 fue un valor no significativo debido a la cercanía del valor ideal, determinándose que esta cuenta con un nivel de animales homocigotos y heterocigotos proporcional entre ellos, el valor fue altamente significativos para la correlación con un valor de -0,822 en la población de valles interandinos determinado con ($p < 0,001$), la población perteneciente a Córdoba cuenta con un valor de -0,630, su nivel de significación está determinado con un valor medianamente significativo ($p < 0,01$), refiriéndose que la población cuenta con una tendencia a animales heterocigotos más que homocigotos, pudiendo decir que la proporción es semejante entre la población (tabla 14).

Tabla 14: Valores de Heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho), equilibrio de Hardy – Weinberg (EHW) y valores de Fis, Comparación por marcador y población.

<i>Valores obtenido para la población en general</i>						
<i>Población</i>	<i>Locus</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>	<i>X²</i>	<i>Significancia</i>
<i>General</i>	IGF1ov3	0,670	0,446	-0,504	38,122	***
<i>Valores obtenido para cada una de las poblaciones</i>						
<i>Población</i>	<i>Locus</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>	<i>X²</i>	<i>Significancia</i>
<i>Valles interandinos</i>	IGF1ov3	0,902	0,495	-0,822	27,718	***
<i>Córdoba</i>		0,773	0,474	-0,630	8,722	**
<i>Piedemonte llanero</i>		0,200	0,180	-0,111	0,309	ns

Grados de libertad (número de alelos -1), niveles de significancia: ns=no significativo, * $P < 0,05$,

** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, (Ho) Heterocigosidad observada, (He) Heterocigosidad esperada,

índice de fijación (Fis) y prueba de chi-cuadrado (X²).

El IGF-1 de las ovejas adultas presenta una gran similitud al IGF-I humano y bovino (Francis, Kerrie A. Mcneil, Ballard, & Owens, 1989). Estudios relacionados a la acción de este gen, exponen que los IGF, se producen en diferentes órganos y que ejercen efectos biológicos en la mayoría de las células, La ubicuidad de los sitios de producción y acción ha llevado al concepto de que estos péptidos actúan por mecanismos autocrinos y paracrinos, así como por mecanismos endocrinos (Thissen & Underwood, 1994). En cuanto a estudios semejantes en la detección de polimorfismos presentes en la hormona del factor insulínico del crecimiento, diferentes autores exponen a ver encontrado dichas mutaciones en poblaciones bovinas. De acuerdo a estudios realizados por otros investigadores y dando relación a la acción que ejerce este gen en los ovinos y bovinos, las mutaciones ubicadas en la región promotora de este gen, ejerce un efecto significativo, sobre las características de crecimiento en animales, lo cual puede tener una acción sobre la transcripción génica, y sobre los rasgos fenotípicos (J. N. He, y otros, 2012). Otros estudios asociados a características de crecimiento realizada por diferentes autores, reportan que los efectos del polimorfismo del gen IGF-1 se ven influenciados principalmente en las ganancias diarias de peso (Lateulade & Lago, 2012).

En el caso de Silva, y otros (2006), se afirma que la relación del gen IGF-1, en la población de animales estudiados (bovino de la raza Holandesa) fueron heterocigotos, mientras que en la población de animales Gyr estaba compuesta casi en su totalidad por animales homocigotos para el gen, lo cual atribuye una alta frecuencia de individuos heterocigotos en la población cruzada, verificando las diferencias manifestadas en las frecuencias alélicas y genotípicas.

De igual manera en el estudio realizado por Laus da Rosas, 2016, determino la presencia de polimorfismos en el gen IGF-1 mediante la técnica PCR y sometiendo los productos de la amplificación a un proceso de digestión con la enzima Hinf-I, por el método RLFP, en el cual se

visualizaron en geles de agarosa corridos por electroforesis , tres patrones de migración de bandas, clasificándolas como homocigotas (VV, SS) y heterocigoto (VS), con ello se realizó la afirmación de la existencia de polimorfismos presentes en una región del gen de IGF-1.

En comparación del trabajo realizado por Rodriguez (2010), estudio hecho en bovinos, se obtuvieron los siguientes valores para las frecuencias alélicas para tres poblaciones constituidas por la siguiente base racial por Romosinuano, Cebú y Romosinuano cruce por Cebú, 94%, 54% y 65% para el Alelo A, para el alelo B, 6%, 46%, 35%, lográndose observar que el alelo A primaba en cada una de las poblaciones, en cuanto a la frecuencia genotípica los valores obtenidos para homocigoto AA, fueron los siguientes, 90%, 25%, 32%, para heterocigoto AB, 8%, 55%, 66%, mientras que para el homocigoto BB, 2%, 20%, 2% respectivamente al orden de la razas estudiadas, con ello se puede determinar que los genotipos que sobresalieron en la población fueron Para Romosinuano heterocigoto con el 90%, Cebú y Romosinuano por Cebú del 55% y 66%, mientras que en la población del presente estudio para el marcador IGFov1, IGFov2 y IGFov3 se obtuvo que los genotipos que tienen mayor presencia en la población son heterocigotos (AB) con el 57,58%, 90,32%, 57%. De igual manera estos genotipos están asociados, esto debido a que al ser los bovinos y ovinos especies homologas, estas poseen regiones conservadas en su genoma, por ende se presenta coincidencias en regiones específicas, en las cuales se han obteniendo una compatibilidad genética del gen IGF-1, dando como resultado polimorfismos en este mismo y obteniendo animales de genotipo heterocigoto con mayor incidencia en la población.

En concordancia a los resultados obtenidos según los expone Cuetia Londoño (2012), en su trabajo realizado, las frecuencias alelicas para la identificación de SNP's, se ve influenciada por la

selección de características de la producción, debido a que el apareamiento no es dado al azar, por dicho motivo no se espera que se encuentren las poblaciones en equilibrio de Hardy-Weinberg.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACION.

Los resultados obtenidos mostraron que los marcadores GH, IGFov1, IGFov2 e IGFov3, diseñados a partir del genoma de bovino son homólogos y empalmaron perfectamente con las secuencia de los genes GH e IGF1 de ovinos. Así mismo se pudo identificar polimorfismos de dichos marcadores en los ovinos criollos estudiados.

Se pudo determinar los valores requeridos para el análisis de las frecuencias alélicas, genotípicas, y el índice de fijación, encontrando que la población para el marcador GH, IGFov1, IGFov2, IGFov3 no se encuentran equilibrio de Hardy Weinberg, esto debido a que los animales seleccionados para el presente estudio están sometidos a procesos de selección, planes de reproducción, etc.

Mediante el uso y la aplicación correcta de la técnica PCR-SSCP se permitió realizar el proceso de genotipificación de muestras en la totalidad de la población estudiada, de igual manera se sugiere que para próximos estudios se realice la secuenciación de los productos obtenidos a partir de los fragmentos amplificados, para ellos se debe secuenciar fragmentos tanto de los genotipos AA, AB y BB para confirmar los resultados obtenidos y así ser más verídicos en los resultados.

Se encontró un alto porcentaje de individuos heterocigotos en todas las poblaciones con los marcadores implementados en el estudio, determinado el nivel de fijación de los alelos y de endogamia expresados en los genotipos de los individuos, esto debido a las prácticas de manejo y de reproducción que se establecen en las producciones.

Se recomienda trabajar con un número mayor de poblaciones y de individuos para así poder realizar estudios más exactos, implementando más marcadores relacionados al crecimiento muscular que sean reportados en literatura, de igual manera se recomienda la utilización de marcadores moleculares en producciones pecuarias y en programas de selección genética en ovinos criollos colombianos.

Se concluye que las diferencias encontradas entre las poblaciones se ven determinada por los procesos de manejo, nutricionales, ambientales y de reproducción.

Bibliografía

- Andreo, M. L., & Catalina, A. P. (2013). *Identificación y cuantificación de especies en productos alimenticios mediante PCR en tiempo real* . Obtenido de Universidad complutense de Madrid : <http://eprints.ucm.es/20096/1/T34348.pdf>
- ASCUE, N. J. (2013). DIVERSIDAD GENÉTICA DE OVINOS CRIOLLOS COLOMBIANOS . *UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA* , 21.
- Asociación Argentina Criadores de Merino. (2006). Procesos de formación de la Raza Merino. *Sitio Argentino de Producción Animal*.
- B. A. Costine, E. K. (2004). Growth hormone at breeding modifies conceptus development and postnatal growth in sheep. *Division of Animal and Veterinary Sciences, West Virginia University, Morgantown*, 810.
- Balia, F., Garippa, G., & Vacca, G. M. (2011-2012). Efecto del polimorfismo del gen GH ovino sulla produzione di latte. *Università degli studi di Sassari*. Obtenido de http://eprints.uniss.it/8476/1/Balia_F_Effetto_polimorfismo_gene_GH.pdf
- Beermann, D. H. (2014). Physiology. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 2.
- Bell, A. W., & Greenwood, P. L. (2016). Prenatal origins of postnatal variation in growth, development and productivity of ruminants. *Animal Production Science*.
- Bermejo, J. V., & Baena, S. N. (2009). Biodiversidad Ovina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. En L. Barona, *Biodiversidad Ovina Latinoamérica*. Córdoba .
- Bideci, A., & Çamurdan, O. (2009). Physiology of Growth Hormone Secretion. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*.
- Brandan, N. (2002). *Citoquinas*. Obtenido de Universidad Nacional de Nordeste: <https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/citoquinas.pdf>

- Bravo, S., & Sepulveda, N. (2010). Indices zoométricos en ovejas criollas Araucanas. *International Journal of Morphology*.
- Bridi, A. M. (s.f). crecimiento e desenvolvimiento do tecido muscular. *Departamento de Zootecnia da UEL*.
Chapter 2: Animal growth, Development, Meat, and slaughter. (s.f.). Obtenido de The livestock industry:
<http://media-out.vcpusd.net/9-12Resources/AnimalScience/03.%20%20Chapter%202,%20Animal%20Growth,%20Development,%20Meat,%20and%20Slaughter.pdf>
- Chen, P.-Y. K. (2003). Detection of Single Nucleotide Polymorphisms. *1Cardiovascular Research Institute*, 43-44.
- Chopa, F. S. (s.f). *Crecimiento y desarrollo*. Obtenido de Universidad Nacional del centro de la provincia de Buenos Aires:
http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/Zootecnia/images/crecimiento_y_desarrollo_-_zootecnia.pdf
- Clutton-Brock, J. (1987). Sheep and goats. En J. Clutton-Brock, *A Natural History of Domesticated Mammals* (pág. 69).
- Cobra Moradian, N. M.-S. (2013). sheep, Effects of genetic polymorphism at the growth hormone gene on growth traits in Makoei. *European Journal of Experimental Biology* , 102.
- Cuetia Londoño, J. A. (2012). *Polimorfismos de los genes Calpaina, Calpastatina y leptina en diez razas bovinas criollas mediante siete marcadores de polimorfismos de nucleotidos simples (SNPs)*. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Curso de Inmunología . (2009). *tema 16: Citoquinas* . Obtenido de Inmunología:
<http://webs.ucm.es/info/saniani/troncales/inmunologia/documentostemas/TEMA%2016.pdf>
- David G. Wang, J.-B. F.-J. (2007). Large-Scale Identification, Mapping, and Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms in the Human Genome. *Science* , 1077.

- Devesa, J., Devesa, P., & Reimunde, P. (2010). Hormona de crecimiento: acciones y aplicaciones preventivas y terapéuticas. *Medicina Clínica*, 665-666.
- Díaz, D. A. (2012). *Fisiología del Crecimiento*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2016, de <http://prodanimal.fagro.edu.uy/cursos/NUTRICION/MATERIAL%202012/Fisiologia%20crecimiento.pdf>
- Dirección provincial de la educación técnico profesional dirección de educación agraria. (s.f). *Manual de ovinos 3° año ciclo básico agrario*.
- Dodgson, J., Cheng, H., & Okimoto, R. (1997). DNA marker technology: a revolution in animal genetics. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9251136>
- Dominguez, D. C., Navarro, D. R., Martínez, D. M., Henríquez, D. J., & Moreno, D. C. (2001). Hormona de crecimiento y hueso. *15 Jornadas: servicio de cirugía ortopédica y traumatología*, 173.
- Donicer V. Montes, J. M. (2013). CARACTERIZACIÓN FANERÓPTICA Y MORFOLÓGICA DE LA HEMBRA OVINA DE PELO CRIOLLO (CAMURA) COLOMBIANA, EN LA SUB REGIÓN SABANAS Y GOLFO DE MORROSQUILLO DEPARTAMENTO DE SUCRE. *Revista Colombiana Ciencias Animales*, 3-9.
- Dorado, J. C., Huertas, H. R., Rivera, M. A., & Escobar, E. R. (2002). Ovino Colombiano de Pelo. *CORPOICA, Centro de investigación de Nataima*.
- Ehrenborg, E., & Krook, A. (2009). Regulation of Skeletal Muscle Physiology and Regulation of Skeletal Muscle Physiology and Receptor δ . *Pharmacological Reviews*, 374.
- Ensembl. (08 de 2017). Obtenido de http://www.ensembl.org/Ovis_aries/Gene/Summary?db=core;g=ENSOARG00000013932;r=11:47539117-47540747;t=ENSOART00000015172
- Espinal, C. F., Covalada, H. M., & Amézquita, J. E. (12 de 2006). *Cadena de Ovinos y Caprinos en Colombia*. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio Agrocadenas Colombia: www.agrocadenas.gov.co

- Faria, L. C. (Dezembro de 2006). Estudio genético cuantitativo de características de crecimiento e reproductivas em bovinos da raça Brahman no Brasil. *Universidade Estadual Paulista*, 23-30.
- FARMALATINA. (s.f.). *FARMALATINA* . Recuperado el 24 de 09 de 2016, de Tubo EDTA (Hematología): http://www.farmalatina.cl/site/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=58&Itemid=197
- Flores, A. A., Gastélum, F. J., Rodríguez, A. Á., & Borunda, J. A. (2004). Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y sus aplicaciones terapéuticas. *gastroenterología mexicana* , 243-245.
- Francis, G. L., Kerrie A. Mcneil, J. C., Ballard, F. J., & Owens, P. C. (03 de 03 de 1989). *Endocrinology*. Obtenido de Sheep Insulin-Like Growth Factors I and II: Sequences, Activities and Assays: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/124/3/1173/2531915?redirectedFrom=fulltext>
- Franco, L. A., Botero, M. F., Perdomo, C. M., Garay, O. V., Yañez, M. B., & Erazo, Y. A. (2014). *ANÁLISIS GENÓMICO DE POBLACIONES OVINAS MEDIANTE EL USO DE UN MICROARREGLO DE ALTA DENSIDAD ASOCIADO A CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO Y CALIDAD DE LA CARNE, CON UNA APROXIMACIÓN A UN SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE CANALES*. Universidad Nacional de Colombia, Genética Molecular Animal; Producción Animal Tropical, Bogotá D.C; Cordoba.
- G. W. Montgomery, J. A. (1990). Extraction of DNA from sheep white blood cells. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 438.
- García, L. A. (07 de 2009). Polimorfismos en el gen de la hormona del crecimiento bovina y su asociación a características de producción. *Ciencia AUT*. Obtenido de <http://www.revistaciencia.uat.edu.mx/index.php/CienciaUAT/article/view/370/181>
- Goddard, M., & Hayes, B. J. (2007). Genomic selection. *Journal Animal Breeding and Genetic*.
- Gutierrez, J. H. (1992). *Ovinos*. Bogotá: Retina Ltda.
- Henryon, M., P.Berg, & A.C.Sorensen. (2014). Animal breeding schemes using genomic information need breeding plans designed to maximise long-term genetic gains. *Livestock Science*.

- hormone, (. E.-g. (18 de 10 de 1998). *Endocrinology – growth hormone (GH)*. Recuperado el 2016 de 09 de 24, de https://egret.psychol.cam.ac.uk/physiology/Endocrinology_4_growth%20hormone.pdf
- ICA. (2016). *Censo Pecuario Nacional* . Obtenido de Censo Ovino y Caprino en Colombia : <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx>
- ICA, CORPOICA, ASOCRIOLLO, COLOMBIA, U. N., FAO, FENAVI, . . . FEDEGAN. (2003). *Situación de los recursos zoogenéticos en Colombia*. Bogota D.C: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- instructional materials service. (s.f.). *Applied Agricultural Science and Technology Animal Growth and Development*. Texas: Intructional material servis IMS Online.
- Invasive Species Compendium. (04 de 03 de 2013). *CABI*. Obtenido de *Ovis aries* (sheep): <http://www.cabi.org/isc/datasheet/71349>
- Ivan F. Gorlov, Y. A., Shirokova, N. V., Getmantseva, L. V., Slozhenkina, M. I., Mosolova, N. I., Bakoev, N. F., . . . Zlobina., E. Y. (2017). Association of the growth hormone gene polymorphism with growth traits in Salsk sheep breed . *Small Ruminant Research*.
- J M Brameld, A. M. (2000). Maternal nutrition alters the expression of insulin-like growth factors in fetal sheep liver and skeletal muscle. *Journal of Endocrinology*, 429-435. Recuperado el 10 de 04 de 2017, de <http://www.endocrinology.org>
- J. Li, A. J. (2002). Control of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I expression by cortisol in ovine fetal skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 581-586.
- J. N. He, B. Y. Zhang, M. X. Chu, P. Q. Wang, T. Feng, G. L. Cao, . . . N. Li. (10 de 2012). *Molecular Biology Reports*. Obtenido de Polymorphism of insulin-like growth factor 1 gene and its association with litter size in Small Tail Han sheep: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s11033-012-1846-y>
- J.L. Jia, L. Z. (2014). Study of the correlation between GH gene polymorphism and growth traits in sheep . *Genetics and Molecular research*.

Jiang, G.-L. (S.f). Molecular Markers and Marker-Assisted Breeding in Plants.

doi:<http://dx.doi.org/10.5772/52583>

José Ernandes Rufino de Sousa, S. M. (2006). Efeitos genéticos e de ambiente para características de crescimento em ovinos Santa Inês no Estado do Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, 364-365.

Kalmes, R., & Huret, J. L. (02 de 2001). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*.

Obtenido de Modelo de Hardy-Weinberg: <http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/HardySp.html>

Konstantinos, K. V., Panagiotis, P., Antonios, V. T., Agelos, P., & Argiris, N. V. (2008). PCR–SSCP: A Method for the Molecular Analysis of Genetic Diseases. *Mol Biotechnol*. doi:10.1007/s12033-007-9006-7

Lateulade, P. B., & Lago, A. K. (2012). *Asociación de un marcador genético del factor similar a la insulina- i (igf-i) con características de crecimiento de terneras aberdeen angus*. Montevideo.

Laura Patricia Alejos Velázquez, M. d. (s.f.). *Extraccion y purificacion de ADN*. Estado de Mexico.

Legorreta, J. Á. (07 de 02 de 2005). *Ovis aries (domestica) Linnaeus, 1758*. Recuperado el 05 de 11 de 2016,

de Ovis aries (domestica) Linnaeus, 1758:

http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Ovisaries%20_domestica__00.pdf

Lizarazo, R. P. (2014). *Juventudes Rurales en el Suma Paz Trayectorias sociales y relatos de vida*. Bogotá : pregraf impresores S.A.S.

López, H. A. (s.f.). *Situacion del recurso Ovino y Caprino en Colombia*. Recuperado el 10 de 06 de 2017, de Documento de trabajo elaborado en el marco del plan nacional de acción para la conservación

mejoramiento y utilización sostenible de los recursos genéticos animales de Colombia.:

<https://sioc.minagricultura.gov.co/OvinoCaprina/Documentos/005%20->

[%20Documentos%20Técnicos/Situacion%20Recursos%20Ovino%20-%20Caprino.pdf](https://sioc.minagricultura.gov.co/OvinoCaprina/Documentos/005%20-%20Documentos%20Técnicos/Situacion%20Recursos%20Ovino%20-%20Caprino.pdf)

Marin, P. A., Cadavid, H. A., & Muñoz, M. F. (2013). Genomica en la produccion animal. *Revista Colombiana de Ciencias Animales*, 498-500.

McDonald, I., Robison, J. J., Fbaser, C., & Smart, R. I. (1979). Studies on reproduction in prolific ewes. 5.

The accretion of nutrients in the foetuses and adnexa. *The Journal of Agricultural Science*. doi:
<https://doi.org/10.1017/S0021859600053843>

McManus, C., Evangelista, C., Fernandes, L. A., Miranda, R. M., Moreno-Bernal, F. E., & Santos., N. R. (2003). Curvas de Crescimento de Ovinos Bergamácia Criados no Distrito Federal. *Revista Brasileira de Zootecnia*.

Mohammad Koohmaraie, M. P. (22 de 04 de 2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship. (ELSEVIER, Ed.) *Meat Animal Research Center*, 346.

Mohini Joshi, D. J. (2010). POLYMERASE CHAIN REACTION: METHODS, PRINCIPLES AND APPLICATION. *International Journal of Biomedical Research*.

Moreno, J. S., Díaz, A. T., & Sebastián, A. G. (2004). El muflon Europeo (*Ovis orientalis musimon* Schreber, 1782) En España: Consideraciones historicas, filogeneticas y fisiologia reproductiva. *Dpto. Reproducción Animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos, SGIT-INIA*.

Mufarrih, M. E., & FAO. (10 de 07 de 2017). *Sudan desert sheep: Their origin, ecology and production potential*. Obtenido de FAO Corporate Document Repository:
<http://www.fao.org/docrep/t8600t/t8600T0d.htm>

Natrass, G. S., Quigley, S. P., Gardner, G. E., Bawden, C. S., McLaughlan, C. J., Hegarty, R. S., & Greenwood., P. L. (2006). Genotypic and nutritional regulation of gene expression in two sheep hindlimb muscles with distinct myofibre and metabolic characteristics. *Australian Journal of Agricultural Research*.

NCBI. (S.f). *GH growth hormone Ovis aries (sheep)* . Obtenido de
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/443329>

NCBI . (S.f). *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Obtenido de
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>

- NCBI. (2006). *Ovine IGF-I gene for insulin-like growth factor-I exon 1 and exon 1A*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/X17229.1?report=graph>
- NCBI. (03 de 09 de 2017). *IGF1 insulin like growth factor 1 [Ovis aries (sheep)]*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/443318>
- NCBI. (S.f). *IGF1 insulin like growth factor 1 Ovis aries (sheep)* . Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/443318>
- NCBI. (s.f). *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrfp/>
- NJ Schorka, D. F. (2000). Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clinical Genetics*, 250- 253.
- Ockerman, H. W., & Aziz, M. A. (1985). sheep and goat production in the Sudan. *World review of Animal Production*.
- Pastrana, R., & Calderon, C. (s.f.). El Ovino Criollo Colombiano. *Instituto Colombiano Aropecuario ICA, Administracion Tecnico Programa de Recursos Genéticos Animales, Corpoica*.
- Patrinos, P. G. (2010). Mutation Detection by Single Strand Conformation Polymorphism and Heteroduplex Analysis. *Molecular Diagnostic Elsevier Ltd. All rights reserved.*, 45-46.
- Pereiro, J. C. (2008). *Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal* . BELO HORIZONTE : FEPMVZ- Editora.
- Queen University . (2005). *DNA EXTRACTION PROTOCOLS*. Lougheed Genetics Laboratory Manual.
- Raimundo Nonato Braga Lôbo, & Lôbo, A. M. (Junio de 2007). Melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. *Revista Brasileira de reprodução Animal*.
- Rajni Kumari, R. K. (2014). GENETIC POLYMORPHISM OF GROWTH HORMONE GENE IN NATIVE SHEEP BREEDS OF INDIA. *The Indian Journal of Small Ruminants*, 15.

- Rasa research. (s.f.). *What is MGF? (Mechano Growth Factor)*. Obtenido de <https://rasaresearch.com/what-is-mgf/>
- Ríos, E., Ruiz, H. M., & Castañeda, S. T. (07 de 2009). Marcadores moleculares: una revolucion en la Zoología. Obtenido de http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/60_3/PDF/01-496-Marcadores-moleculares.pdf
- Robinson, J. (06 de 02 de 1981). Prenatal growth and development in sheep and its implication for the viability of the newborn lamb. *Livestock Production Science*. doi:[https://doi.org/10.1016/0301-6226\(81\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0301-6226(81)90008-7)
- Rodríguez, F. P., Genis, J. C., Guerrero, J. G., Pertiñez, M. D., Guerrero, Y. M., alde, M. A., & Redondo, P. G. (2005). *Bases de la produccion animal*. Sevilla : Universidad de Sevilla, Servicio de publicacion Universidad D Cordoba, Universidad de Huelva .
- Rodriguez, M. R. (2010). *Estudio de los genes MYF5, PDE1B e IGF1 y los microsatelites BM6026, CSSM34, RM500 Y ETH10 asociados a crecimiento en ganado Criollo Romosinuano*. Bogota D.C: Universidad Nacional de Colombia.
- Rosa, V. L. (2016). Identificação de polimorfismos no gene do IGF-I em bovinos (Bos taurus) da raça Crioula Lageana. Obtenido de <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/174490/TCC%20-%20VANESSA%20LAUS%20DA%20ROSA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- San Primitivo, F. y. (2000). Situación actual de la oveja de raza Churra. *Archivos zootecnia- universidad de Leon*, 49(185-186), 161-165.
- Silva, M. V., Martinez, M. L., M. A., Nascimento, C. S., Campos, A. L., Guimarães, M. F., . . . Lui, J. F. (2006). Genes do eixo somatotrófico e características de crescimento numa população F2 de bovinos. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. Obtenido de <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/7235/4280>

- Simal, R. S. (12 de 02 de 2012). *Hormona del crecimiento (GH)*. Obtenido de Fisiología humana II: <http://www.webfisiologia.es/fisiologia/endocrino/textos/gh.htm#e31>
- Stefano Schiaffino, K. A. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *the FEBS Journal*.
- Supakorn, C. (2007). *Effect of growth hormone and growth hormone receptor genes for preweaning growth traits in a multibreed beef population*. Tailandia: Kasetsart University.
- Teruel. (2001). *Anexos I. la oveja criolla, con especial referencia al tipo de explotado en las sierras de los Comechingones, Córdoba*. (E. g. Argentina, Ed.) Recuperado el 10 de 12 de 2016, de Trabajo presentado en el XXV congreso de la Sociedad Española de ovinotecnia y capronotecnia: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina/000-ganado_lanar_en_argentina_libro/09-anexo_1_oveja_criolla.pdf
- Thissen, J.-P., & Underwood, J.-M. K. (01 de 02 de 1994). *Endocrine reviews*. doi:<https://doi.org/10.1210/edrv-15-1-80>
- Timothy R. H. Regnault, S. W. (2015). Factors Influencing Fetal Growth. *University of Colorado Health Sciences Center*.
- Tucho, T. A. (2004). Genetic characterization of indigenous goat populations of Ethiopia using microsatellite DNA markers. *Division of dairy cattle breeding National dairy research institute (ICAR)*.
- V., V. B., & C., M. P. (2000). Use of biochemical and molecular markers in genetic diversity studies. *Agricultura Técnica*. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072000000300007>
- Valdenegro, H. H., & Pérez, N. B. (1998). Mejoramiento Genético de Animales. *Ciencia al Día*, 1, 1-3.
- Vargas Bayona, J. E., Bello, D. A., Serrano Novoa, C. A., & Rivera., O. F. (2016). Diversidad de la Cabra en Colombia. *Biodiversidad caprina iberoamericana*, 140-143.

Vergara Garay, O., Llorente M, E., Ramos C, L., Bustamante Yáñez, M., & Simanca Sotelo, J. C. (2016).

Descripción del crecimiento en ovinos criollos utilizando el modelo Brody. *Unillanos*.

Vergara, W. V. (2011). Desarrollo del subdesarrollo o nueva ruralidad para Colombia. Cartografías del

desarrollo rural. *Revista universidad de la salle*, 33-44.

vet. unicen. (s.f.). *Marcadores genéticos* . Obtenido de Marcadores genéticos una guía introductora :

<http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/MejoraGenetica/images/Documentos/G>

[UIAS%20TEORICAS/8%20-%20Marcadores%20Gen%C3%A9ticos.pdf](http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/MejoraGenetica/images/Documentos/GUIAS%20TEORICAS/8%20-%20Marcadores%20Gen%C3%A9ticos.pdf)

widmaier. (s.f.). *MUSCLE*. Recuperado el 04 de 09 de 2016, de

highered.mheducation.com/sites/dl/.../widmaier_samplech9.pdf

Yun, Y. R., Won, J. E., Jeon, E., Lee, S., Kang, W., Jo, H., . . . Kim, H. W. (07 de 11 de 2010). *NCBI; PMC*

National Library of Medicine. doi:10.4061/2010/218142