



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**PROGRAMA DE POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y  
PRODUCTIVIDAD**

**GANADERÍA**

## **PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y RENDIMIENTO DE LA CANAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE GLICEROL**

**MIGUEL ALEJANDRO CABRERA CRUZ**

**T E S I S**  
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2018**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Miguel Alejandro Cabrera Cruz, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dra. María Esther Ortega Cerrillo, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis

Parámetros productivos y rendimiento de la canal en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicero.

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 22 de Junio de 2018

  
Firma del  
Alumno (a)

  
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y RENDIMIENTO DE LA CANAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE GLICEROL**, realizada por el alumno: **MIGUEL ALEJANDRO CABRERA CRUZ**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

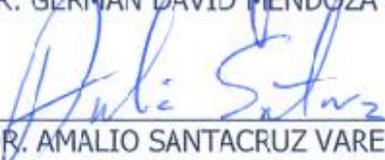
CONSEJERO (A)

  
DRA. MARÍA ESTHER ORTEGA CERRILLA

ASESOR (A)

  
DR. GERMAN DAVID MENDOZA MARTÍNEZ

ASESOR (A)

  
DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Mayo de 2018

# PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y RENDIMIENTO DE LA CANAL EN OVINOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE GLICEROL.

Miguel Alejandro Cabrera Cruz, M. en C.  
Colegio de postgraduados, 2018

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento productivo y rendimiento de la canal de ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol. Se utilizaron 30 borregos machos de la raza Suffolk-Katahdin, con edad promedio de 60 días y peso promedio de  $24 \text{ kg} \pm 3 \text{ kg}$ , que se distribuyeron en forma aleatoria en cuatro tratamientos con la inclusión de T1: 0 %, T2: 5 %, T3: 10 %, y T4: 15 % de glicerol. Los datos se analizaron mediante el procedimiento PROC GLM de SAS 9 (2002) en un diseño completamente al azar. La comparación de medias de los tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey. Para la variable de rendimiento de canal se hizo una transformación de arco seno. Los resultados mostraron que no hubo diferencias ( $P>0.05$ ) en CMS, GDP y CA, siendo la inclusión del 5 % (T2) el de mayor promedio en las variables productivas. El rendimiento de la canal fue similar ( $P>0.05$ ) entre tratamientos, mostrando un efecto proporcional entre el rendimiento y los niveles de inclusión del glicerol con una diferencia numérica de 2.32 % entre el T1 con 0 % de glicerol y T4 con el 15 % de glicerol, así mismo, la presencia del gen *callipyge* no tuvo un efecto en los animales para el fenotipo de GDP y RCC mostrando comportamiento monomórfico, concluyendo que la inclusión de glicerol en la dieta de ovinos es una fuente viable de alimentación debido a su velocidad de fermentación en el rumen, además de que no afecta las variables productivas ni el rendimiento de la canal.

**Palabras clave:** Glicerol, rumiantes, *Callipyge*, Metabolismo, nutrición.

# PRODUCTIVE PARAMETERS AND PERFORMANCE OF THE CARCASS IN SHEEP FEEDED WITH DIFFERENT GLYCEROL LEVELS.

Miguel Alejandro Cabrera Cruz, MC.  
Colegio de postgraduados, 2018

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the productive behavior and performance of the carcass of sheep fed with different levels of glycerol. 30 male sheep of the Suffolk-Katahdin breed are used, with an average age of 60 days and an average weight of  $24 \text{ kg} \pm 3 \text{ kg}$ , which were randomized into four treatments with the inclusion of T1: 0%, T2 : 5%, T3: 10%, and T4: 15% glycerol. The data was oriented by the procedure PROC GLM of SAS 9 (2002) in a completely randomized design. The means comparison of the treatments was performed by the Tukey test. For the carcass yield variable, a sine-arc transformation was made. The results showed that there were no differences ( $P > 0.05$ ) in CMS, GDP and CA, with the inclusion of 5% (T2) being the highest average in the productive variables. . The yield of the carcass was similar ( $P > 0.05$ ) between treatments, showing a proportional effect between the performance and the inclusion levels of the business with a numerical difference of 2.32% between the T1 with 0% of Glycerol and T4 with 15% of glycerol, likewise, the presence of the callipyge gene had no effect on the animals for the phenotype of GDP and RCC showing monomorphic behavior, concluding that the inclusion of a drug in the diet of sheep is a viable source of food due to its speed fermentation in the rumen, in addition to not affecting the productive variables or the performance of the carcass.

**Key words:** Glycerol, ruminants, *Callipyge*, Metabolism, nutrition.

## **DEDICATORIA**

Quiero dedicarle el presente trabajo a mi familia que aunque muy pequeña, el cobijo y cariño es inmenso, a mi esposa, mis hijas, mi madre, hermanas, primos, tíos y amigos que me acompañaron durante todo el camino hasta el día de hoy, va por ustedes.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento de mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados campus Montecillo por brindarme recursos y espacio para poder llevar a cabo la investigación.

A la doctora María Esther Ortega Cerrilla, por toda la paciencia y fe que ha depositado en mí, formándome para ser un mejor estudiante y sobre todo mejor ser humano.

A mis asesores por su valioso apoyo y ayuda en la elaboración de esta investigación, además de su amistad.

**GRACIAS TOTALES.**

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iv
ABSTRACT .....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS .....	vii
LISTA DE CUADROS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1 Glicerol.....	3
2.2 Glicerol como fuente de energía. ....	4
2.3 Gluconeogénesis. ....	5
2.3.1 Formación de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato.....	5
2.3.2 Conversión de fructosa-1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato. ....	6
2.3.3 Obtención de glucosa libre. ....	6
2.4 Rutas metabólicas de la gluconeogénesis.....	7
2.4.1 Ciclo de Cori. ....	7
2.4.2 Ciclo Alanina-Glucosa. ....	9
2.4.3 Ácido propiónico (AGV) a glucosa.....	10
2.5 Metabolismo del glicerol en rumen. ....	11
2.6 Parámetros productivos de rumiantes alimentados con glicerol. ....	12
2.6.1 Uso de glicerol en vacas lecheras. ....	12
2.6.2 Ovinos de engorda y lactantes. ....	13
2.7 Factores que influyen en el rendimiento de la canal en ovinos.....	15
2.7.1 Raza o genotipo.....	15
2.7.2 Sexo. ....	15
2.7.3 Alimentación. ....	16
2.8 Genes involucrados en el rendimiento de la canal de ovinos. ....	16
2.9 Características fenotípicas de los ovinos.....	17
2.10 Efectos del gen <i>Callipyge</i> en el rendimiento de la canal y ganancia diaria de peso en ovinos.....	17

2.10.1 Características del músculo.....	18
3. OBJETIVOS .....	19
3.1 Objetivo general.....	19
3.2 Objetivos específicos.....	19
4. HIPÓTESIS .....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
5.1 Localización del área experimental.....	20
5.2 Unidades experimentales.....	20
5.3 Tratamientos.....	20
5.4 Variables evaluadas.....	21
5.4.1 Ganancia diaria de peso (GDP).....	21
5.4.2 Consumo de materia seca (CMS).....	21
5.4.3 Conversión alimenticia (CA).....	22
5.4.4 Rendimiento de la canal.....	22
5.4.5 Búsqueda de la secuencia del gen (CLPG) para sintetizar el iniciador.....	22
5.4.6 Obtención de la muestra.....	23
5.4.7 Extracción y calidad de ADN para determinar la presencia del gen (CLPG).....	23
5.4.8 PCR en punto final.....	24
6. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	24
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
7.1 Parámetros productivos .....	25
7.2 Rendimiento de la canal.....	27
7.3 Polimorfismo del gen <i>Callipyge</i> en gel de agarosa al 3 %.....	30
8. CONCLUSIONES .....	32
9. LITERATURA CITADA.....	33
ANEXOS .....	41

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Parámetros productivos de corderos alimentados con una ración con glicerol.....	14
<b>Cuadro 2.</b> Parámetros productivos de ovejas alimentadas con una ración con glicerol a lo largo de la lactación .....	14
<b>Cuadro 3.</b> Dietas experimentales. ....	21
<b>Cuadro 4.</b> Iniciadores sintetizados para el gen <i>Callipyge</i> .....	22
<b>Cuadro 5.</b> Parámetros productivos de ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol.....	27
<b>Cuadro 6.</b> Variables de rendimiento de la canal en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol.....	30

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y glucólisis en el hígado. El ATP requerido para la gluconeogénesis se obtiene mediante la oxidación de ácidos grasos. El propionato sólo tiene importancia cuantitativa en rumiantes. Las altas concentraciones de alanina actúan como una “señal gluconeogénica” al inhibir la glucólisis en el paso de la piruvato cinasa (Murray et al., 2013)..... 7
- Figura 2.** Ciclo de Cori. Se muestra la comunicación entre músculo esquelético e hígado donde ocurren simultáneamente glucólisis y gluconeogénesis gracias a la reacción de óxido-reducción de piruvato (Murray et al., 2013). ... 8
- Figura 3.** Ciclo de la glucosa alanina. Se muestra la comunicación entre musculo esquelético y el hígado, así como el destino final del amoniaco a través del ciclo de la urea (Murray et al., 2013. .... 9
- Figura 4.** Resultados monomórficos del gen *Callipyge* en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol en gel de agarosa al 3 % con una escalera molecular de 1kb..... 30



## 1. INTRODUCCIÓN.

El aumento en la demanda mundial por la utilización de fuentes de energías renovables como alternativa al uso de combustibles fósiles, se ha incrementado en las últimas décadas, debido principalmente, a que países considerados como los grandes consumidores energéticos, han logrado establecer políticas encaminadas a la generación de una industria de biocombustibles, con el propósito de reducir los enormes impactos ambientales y la dependencia energética, que en la actualidad está ocasionando el uso excesivo e indiscriminado de combustibles fósiles. Dentro de la industria de los biocombustibles se encuentra aquella relacionada con la producción de biodiesel a partir de aceites vegetales. Sin embargo, dentro de los retos que la industria del biodiesel debe enfrentar, se encuentra la creación de nuevos mercados para la utilización de la glicerina cruda, la cual es considerada como uno de los principales subproductos de esta industria, representando aproximadamente el 10% de la producción total de biodiesel (Thompson y He, 2006; Melero *et al.*, 2012).

El componente mayoritario de la glicerina cruda es el glicerol ( $C_3H_8O_3$ ), cuya concentración depende de diversos factores, en los que se encuentra el tipo de fuente vegetal de donde es extraído el aceite, así como del proceso de producción de biodiesel (Ayoub *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012). El uso del glicerol o glicerina en la alimentación animal, sobretodo de rumiantes, no es algo nuevo; sin embargo, debido a su alta disponibilidad por la industria del biodiesel y bajo costo (en algunos países), ha tomado de nuevo gran interés durante esta última década.

Desde el punto de vista bioquímico el glicerol se define como un azúcar-alcohol; fuente importante de energía para la alimentación animal, rumiantes principalmente. El glicerol cuenta con un valor energético promedio de 2,20 Mcal, logrando ser equiparable o superior a la del grano de maíz (Lebzien y Aulrich, 1993; Schröder y Südekum, 1999; Drackley, 2008), definiéndolo además, como un compuesto de características gluconeogénicas, siendo el propionato, el principal producto de su fermentación en rumen (Bergner *et al.*, 1995; Kijora *et al.*, 1998). Sin embargo, el potencial nutricional de

la glicerina, depende de varios factores, entre los que se encuentran, el tipo de dieta base en el que se incorpore (dietas altas en granos vs dietas altas en fibra), el nivel de inclusión (<15% de la MS total) y su grado de pureza (definida como aquella glicerina con altos contenidos de glicerol y baja concentración de metanol y sales).

El objetivo de esta investigación fue evaluar los parámetros productivos en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol y su efecto en el rendimiento de la canal.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Glicerol.

La producción de biodiesel proporciona una cantidad relativamente grande de subproductos y desechos (Schievano *et al.*, 2009). Dentro de estos residuos, el glicerol crudo es el subproducto principal de la industria del biodiesel. En general se producen aproximadamente 10 kg de glicerol crudo por cada 100 kg de biodiesel. El glicerol crudo generado por transesterificación catalizada por base homogénea contiene aproximadamente 50 a 60% de glicerol, 12 a 16% de álcalis, especialmente en forma de jabones e hidróxidos alcalinos, 15 a 18% de ésteres metílicos, 8 a 12% de metanol, y 2 a 3% de agua. Además del metanol y los jabones, el glicerol en bruto también contiene una variedad de elementos como Ca, Mg, P o S y otros componentes (Thompson y He, 2006; Kocsisová y Cvengos, 2006).

El amplio rango de los valores de pureza se puede atribuir a los diferentes métodos de purificación de glicerol utilizados por los productores de biodiesel y las diferentes materias primas utilizadas en su producción. Thompson y He (2006) han caracterizado el glicerol producido a partir de varias materias primas de biodiésel. Encontrando que el glicerol en bruto de cualquier materia prima generalmente está entre 60 y 70% (en peso) de glicerol.

Como la producción de biodiesel ha aumentado exponencialmente, el glicerol en bruto generado en este proceso también se ha producido en gran cantidad y se espera que crezca aun mas en el futuro. Por lo tanto, se presume que habrá un excedente de glicerol en el mercado mundial (Adhikari.*et al.*, 2007). Además, la economía del biodiesel también podría verse influenciada por la forma en que se utilizan los subproductos de glicerol (Suppes, 2006).

A pesar de las amplias aplicaciones del glicerol puro en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética, el refinado de glicerol crudo a una alta pureza es demasiado costoso, especialmente para los productores de biodiesel pequeños y medianos (Pachauri y He, 2006). Para mejorar la viabilidad económica de la industria del biodiesel,

se han estudiado formas alternativas de utilizar la fase cruda de glicerol, como la combustión, la coquefacción, el compostaje, la conversión termoquímica, la conversión biológica al procesamiento crudo de glicerol y su utilización en la alimentación animal (Luo *et al.*, 2008; Pyle, 2008; Slinn *et al.*, 2008; Valliyappan *et al.*, 2008; Da Silva *et al.*, 2009; H'ajek y Skopal, 2010; Rahmat *et al.*, 2010). Entre estas diferentes opciones, la producción biológica de metano a partir de glicerol en bruto por digestión anaerobia tiene varias ventajas (Yang *et al.*, 2008; López *et al.*, 2009). Además de la producción de metano, las ventajas incluyen bajos requerimientos de nutrientes, ahorro de energía y generación de un digestato estabilizado que mejora la calidad del suelo. El glicerol es una sustancia fácilmente digerible que puede almacenarse durante un período prolongado. El alto contenido de energía en la fase de glicerol cruda lo convierte en un sustrato para la digestión anaeróbica, ya que ofrece una alta producción de biogás en reactores pequeños.

## **2.2 Glicerol como fuente de energía.**

La glucosa utilizada en los tejidos deriva de los almidones, sacarosa y lactosa de la dieta, de los depósitos corporales de glucógeno hepático y muscular, o de la síntesis hepática o renal, a partir de precursores gluconeogénicos tales como el esqueleto carbonado de algunos aminoácidos, del glicerol y del lactato; estas fuentes permiten el mantenimiento de la concentración de glucosa en sangre dentro de límites adecuados. El equilibrio entre oxidación, biosíntesis y almacenamiento de glucosa depende del estado hormonal y nutricional de la célula, el tejido y el organismo. Las vías metabólicas predominantes de la glucosa varían en diferentes tipos celulares dependiendo de la demanda fisiológica (DeFrain *et al.*, 2004).

## **2.3 Gluconeogénesis.**

La gluconeogénesis es la ruta por la que se sintetiza glucosa a partir de precursores no glucídicos. La importancia de esta vía está dada por la necesidad que tienen algunos tejidos y órganos (el sistema nervioso central, la médula renal, el cristalino, la retina, los testículos y los eritrocitos) de disponer de glucosa de forma permanente (Lieberman y Marks, 2013).

### **2.3.1 Formación de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato**

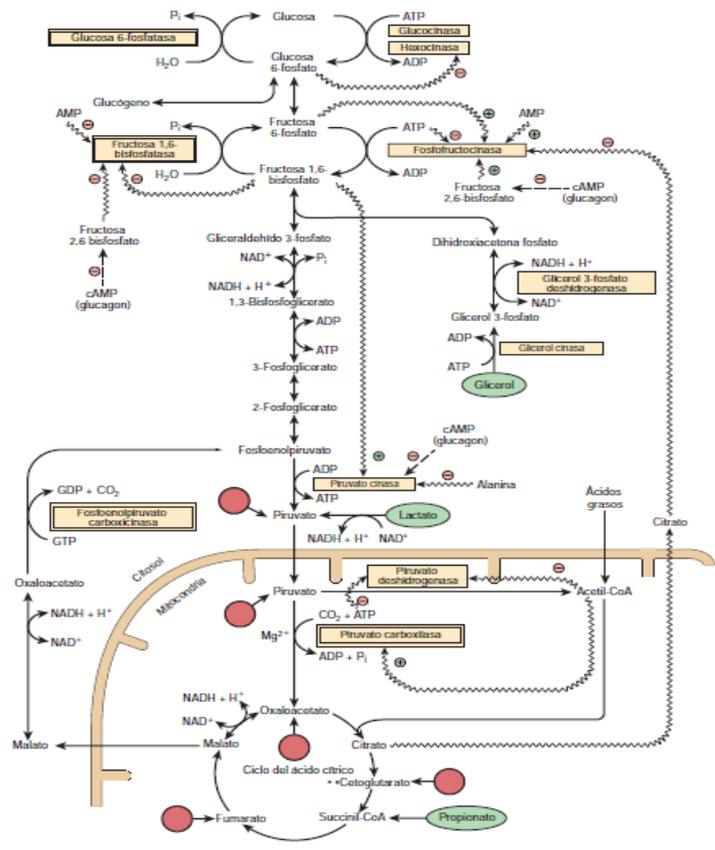
La primera etapa de la gluconeogénesis es la conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato (PEP). La reacción glucolítica es irreversible, dado que tiene una variación de energía libre estándar muy negativa y, para invertirla, se requiere dar un rodeo en el que participan dos enzimas con distinta localización: la piruvato carboxilasa, que se localiza en las mitocondrias, y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), que es citosólica. Como consecuencia, el piruvato debe inicialmente transportarse a la mitocondria donde la piruvato carboxilasa catalizará su conversión en oxalacetato. Esta enzima requiere biotina, ATP y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). El oxalacetato debe salir de la mitocondria. No obstante, no tiene transportador en la membrana mitocondrial, por lo que debe convertirse en malato o aspartato para poder ser transportado. Para su conversión en malato, el oxalacetato se reduce mediante la malato deshidrogenasa mitocondrial, utilizando NADH como reductor. El malato sale al citosol y se oxida por la malato deshidrogenasa citosólica utilizando  $\text{NAD}^+$  como aceptor y de esta forma se obtiene, además de oxalacetato, NADH para la reducción que tiene lugar en una reacción posterior catalizada por la gliceraldehído 3P deshidrogenasa (GAPDH). El oxalacetato se puede convertir también en aspartato por la glutamato-oxalacetato transaminasa (GOT) mitocondrial; el aspartato sale de la mitocondria y por la glutamato-oxalacetato transaminasa citosólica se convierte en oxalacetato. Una vez en el citosol, el oxalacetato se descarboxila por la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) originándose fosfoenolpiruvato (PEP). Esta enzima requiere  $\text{Mg}^{++}$  y guanósín trifosfato (GTP) como donador de fosfato (Pérez, De Ita y Díaz, 2012).

### **2.3.2 Conversión de fructosa-1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato.**

Mediante reacción hidrolítica, en la que se libera fosfato inorgánico, catalizada por la fructosa-1,6-bisfosfatasa que requiere  $Mg^{++}$  como cofactor y en ella se forma fructosa-6-fosfato. La fructosa-1,6-bisfosfatasa constituye el punto de control más importante en la ruta gluconeogénica, se activa por ATP y citrato y se inhibe por adenosín monofosfato (AMP) y fructosa-2,6-bisfosfato (Pérez, De Ita y Díaz, 2012).

### **2.3.3 Obtención de glucosa libre.**

La última de las etapas gluconeogénicas consiste en la formación de glucosa libre a partir de glucosa-6-fosfato en una reacción catalizada por la glucosa-6-fosfatasa, que para ser estable ha de estar unida a una proteína que a su vez se une a  $Ca^{++}$ . La glucosa-6-fosfato se sintetiza en el citosol por lo que debe ser transportada al lumen del retículo endoplásmico (Pérez, De Ita y Díaz, 2012).



**Figura 1.** Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y glucólisis en el hígado. El ATP requerido para la gluconeogénesis se obtiene mediante la oxidación de ácidos grasos. El propionato sólo tiene importancia cuantitativa en rumiantes. Las altas concentraciones de alanina actúan como una “señal gluconeogénica” al inhibir la glucólisis en el paso de la piruvato cinasa (Murray et al., 2013).

## 2.4 Rutas metabólicas de la gluconeogénesis.

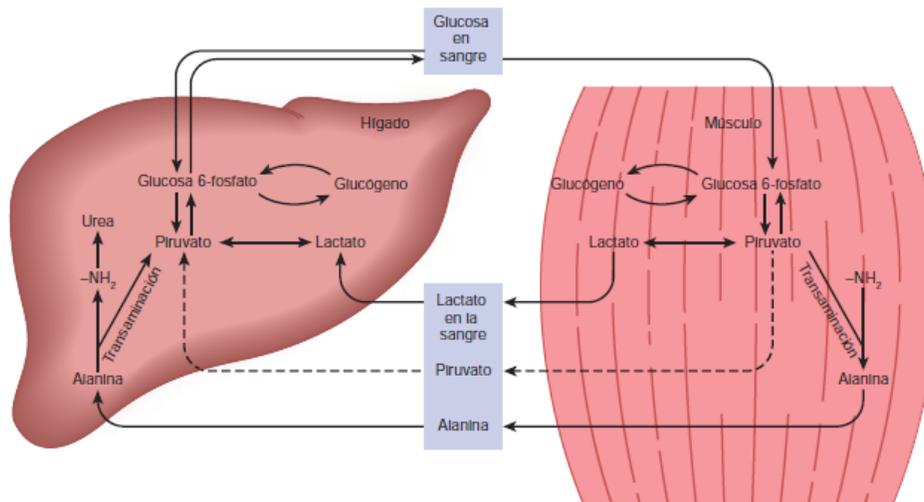
### 2.4.1 Ciclo de Cori.

En ciclo de Cori, cuando ocurre glucólisis en el músculo pero también hay escasez de oxígeno (por ejemplo durante ejercicio intenso) el piruvato final de la ruta entrará a proceso de fermentación y se producirá ácido láctico. Esta producción de ácido láctico es con el objetivo de regenerar NAD<sup>+</sup>, necesario para que vuelva a ocurrir nuevamente la glucólisis. La enzima encargada de catalizar el piruvato hacia lactato es la lactato deshidrogenasa. Si se acumula en gran cantidad el lactato en el músculo puede resultar

tóxico por lo que debe ser exportado hacia el hígado, que es el órgano encargado de detoxificar al organismo.

En el hígado el lactato es reoxidado para convertirse nuevamente en piruvato, por medio de la misma enzima que participo en el músculo (gran cantidad de enzimas pueden catalizar reacciones de manera reversible). Una vez sintetizados, el piruvato entra a la ruta de gluconeogénesis.

Ya generada la glucosa el hígado la exporta de nuevo al torrente sanguíneo para que llegue al músculo. De esta manera se crea un sistema circular eficiente cuando el músculo se encuentra en carencia de oxígeno y por lo tanto no puede realizarse el ciclo de Krebs ni la fosforilación oxidativa, pero requiere conseguir de manera rápida la mayor cantidad de glucosa posible para realizar glucólisis con el fin de obtener energía (Cori y Shine, 1935).



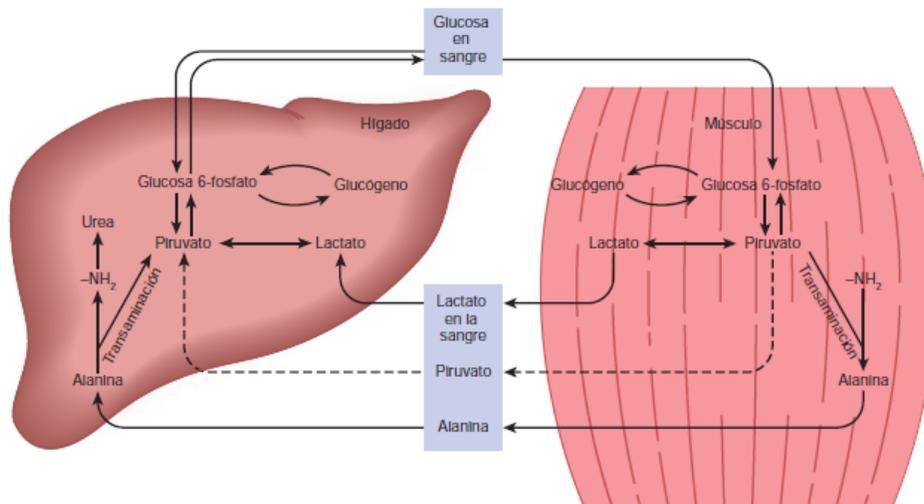
**Figura 2.** Ciclo de Cori. Se muestra la comunicación entre músculo esquelético e hígado donde ocurren simultáneamente glucólisis y gluconeogénesis gracias a la reacción de óxido-reducción de piruvato (Murray *et al.*, 2013).

### 2.4.2 Ciclo Alanina-Glucosa.

De manera similar, este ciclo ocurre como un mecanismo de comunicación entre músculo e hígado con el objetivo de regenerar a la glucosa, pero también para eliminar el nitrógeno. Al obtener el piruvato final de glucólisis este puede ser transaminado al ser tomado como sustrato junto con el glutamato por la enzima alanina-amino transferasa (ALT) para dar como producto alfa cetoglutarato y alanina. La alanina a continuación es enviada al hígado donde ocurre el mismo proceso de manera inversa, el piruvato obtenidos entran a gluconeogénesis con el objetivo de enviarse al torrente sanguíneo para llegar nuevamente hasta el músculo.



De esta manera, estos ciclos contribuyen al mantenimiento de una fuente de energía continua para los tejidos cuando se encuentran en estrés (ejercicio, ayuno) pero también se contribuye a la eliminación de moléculas tóxicas para el organismo, como lactato y grupos amino (Murray *et al.*, 2010)



**Figura 3.** Ciclo de la glucosa alanina. Se muestra la comunicación entre músculo esquelético y el hígado, así como el destino final del amoniaco a través del ciclo de la urea (Murray *et al.*, 2013).

### 2.4.3 Ácido propiónico (AGV) a glucosa

El propionato absorbido es metabolizado principalmente por el hígado, y en mucha menor proporción, por los otros tejidos hasta succinil Co A, el cual ingresa al ciclo de Krebs siguiendo los pasos hasta oxalacetato. A partir de allí puede proseguir a citrato y ser quemado, ir a síntesis de aminoácidos o seguir la vía gluconeogénica. El rumiante tiene escasez crónica de glucosa debido a que la mayor parte de la glucosa proveniente de la degradación de los carbohidratos del alimento es fermentada en el rumen. Por lo tanto, el propionato se destina principalmente para la gluconeogénesis en el hígado (Pfander y Phillipson, 1953; Cook y Miller, 1953). El propionato removido por el epitelio ruminal es metabolizado a lactato, CO<sub>2</sub> e incluso alanina. Se deben considerar los roles de la biotina y la vitamina B12 en la conversión de propionato a succinato, como cofactores de las enzimas propionil Co A carboxilasa y metil malonil-Co A isomerasa, respectivamente. El propionato es el principal precursor gluconeogénico en rumiantes bajo condiciones normales. La mayor parte del mismo proviene de la absorción ruminal, pero una pequeña parte puede venir de la oxidación de los ácidos grasos de cadena impar (que a su vez pueden ser de origen ruminal o de la lipólisis del propio tejido adiposo).

Existen otros precursores como los aminoácidos, el lactato (de origen ruminal o endógeno, ciclo de Cori) y el glicerol (fundamentalmente dietario) (Rook y Thomas, 1967). Durante la lactación, el propionato contribuye aún más a la gluconeogénesis que los aminoácidos, debido a que grandes cantidades de los mismos deben ser usados para síntesis de proteína láctea. En un animal en ayuno, los precursores gluconeogénicos provienen de los aminoácidos (endógenos, por degradación de la proteína tisular) y del glicerol, proveniente de la lipólisis (triglicéridos de las reservas adiposas). Puede compararse el rendimiento en ATP de una glucosa que es metabolizada directamente luego de ser absorbida desde intestino delgado y de una glucosa que es fermentada dando distintos AGV (Leng *et al.*, 1967).

Ácido propiónico ---» Propionil-CoA ---» Metilmalonil-CoA ---» Succinil-CoA  
---» Succinato ---» Fumarato ---» Malato ---» Oxalacetato ---» Glucosa

El propionato es el único AGV capaz de formar glucosa debido a que su número de carbonos es tres y forma directamente oxalacetato. Los otros AGV, acetato y butirato, entran como acetil CoA (2 C) al ciclo de Krebs. Esta entrada, sin embargo, es negada por la pérdida de 2 moléculas de CO<sub>2</sub>, y el proceso empieza y termina con el mismo número de moléculas de oxalacetato. No hay, entonces, síntesis neta de glucosa a partir del acetil CoA derivado de los ácidos grasos. Por ello se considera que el propionato es neoglucogénico y los demás (acetato y butirato) son cetógenicos (Judson *et al.*, 1968).

## **2.5 Metabolismo del glicerol en rumen.**

El glicerol se fermenta a ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen. Las primeras investigaciones de la fermentación indican que el glicerol es casi completamente fermentado a propionato (Johns *et al.*, 1953; Garton *et al.*, 1961). Otros autores indican un aumento de ácido acético y propiónico (Wright, 1969) o más propiónico y butírico (Czerkawski y Breckenridge, 1972). La fermentación *in vitro* del glicerol produce un aumento de la producción de propionato y butirato a expensas del acetato (Remond *et al.*, 1993). Estudios usando glicerol indican que se ha encontrado que la mayor parte del glicerol se convierte en propionato (Bergner *et al.*, 1995). Los microbios ruminales se adaptan al glicerol con tasas rápidas de desaparición de éste. En estudios donde se añadió glicerol de 15 a 25%, la mayor parte desapareció en 6 h (Bergner *et al.*, 1995). Hay variaciones para la desaparición *in vivo* desde el rumen por el metabolismo microbiano. La estimación de la desaparición de una dosis de 200 g de glicerol indica que más del 85% de glicerol en el rumen desaparece en 2 h en ganado acostumbrado al consumo de este (Kijora *et al.*, 1998). Asimismo, hay reportes que sugieren que una parte del glicerol que ingresa al rumen puede ser absorbido directamente (Remond *et al.*, 1993). El destino del glicerol absorbido es metabolizado en el hígado (Lin, 1977) y usado para la gluconeogénesis. Cuando la demanda de glucosa es alta, como es el caso de vacas lactantes, el destino del glicerol absorbido o del propionato producido por la fermentación ruminal es probable que sea el mismo.

## **2.6 Parámetros productivos de rumiantes alimentados con glicerol.**

### **2.6.1 Uso de glicerol en vacas lecheras.**

En la Universidad de Purdue se realizó un ensayo para evaluar el valor de glicerol como reemplazo de maíz en dietas para vacas Holstein. Las vacas, fueron asignadas a las dietas que contenían glicerol 0, 5, 10 o 15% (99,5% USP/FCC, grado Kosher) como un porcentaje de la ración en MS. La ración testigo (glicerol 0%) era balanceada para satisfacer o superar los requisitos del NRC (2001) y contenía maíz ensilado, alfalfa, heno, maíz, vitaminas y minerales. El maíz fue reemplazado por una cantidad equivalente de glicerol y gluten de maíz. La adición de gluten de maíz reemplazaba la proteína eliminada con el grano de maíz. Las dietas se ofrecieron una vez al día *ad libitum*. Las vacas fueron ordeñadas dos veces al día y se obtuvieron muestras de leche en dos ordeños consecutivos las que fueron analizadas para determinar grasa, proteínas, lactosa, sólidos totales, urea, N y células somáticas. El glicerol fue bien aceptado por las vacas, y no hubo diferencias en la producción de leche y consumo de MS en todo el período experimental de ocho semanas. La ingesta de alimento se redujo por la inclusión de glicerol al 15% durante los primeros siete días de evaluación. Se observaron efectos negativos en el consumo durante la primera semana sin encontrar diferencias para las siete semanas posteriores. Para recuperar el consumo dentro de siete días usando niveles de glicerol del 15% se debe aumentar gradualmente el glicerol en la ración o acostumbrar lentamente a los animales.

Varios estudios de alimentación han usado niveles bajos de 150 a 472 g/día (Fisher *et al.*, 1971, 1973; Kalili *et al.*, 1997). Hay pocos trabajos con tasas de alimentación de glicerol con 5% o más en base a materia seca (MS). Schröder y Südekum (1999) alimentaron con glicerol al 10% a ganado lechero, reemplazando eficazmente más de la mitad de la fécula (almidón) en la dieta, sin afectar negativamente la ingesta, digestibilidad ruminal, microorganismos ruminales y la digestibilidad de nutrientes en el ganado. Niveles de 3,6% de glicerol para vacas lecheras en mitad de la lactancia no tuvieron efecto en la ingesta, producción de leche y composición pero alteraron levemente el perfil de ácidos grasos en la leche al aumentar el propiónato y

butirato ruminal a expensas de una reducción en la concentración de acetato (Khalil *et al.*, 1997).

El uso de 0.86 kg/día de glicerol a los 21 días posparto (5,4% de ración MS) no tuvo efectos sobre la producción de leche y el consumo (DeFrain *et al.*, 2004). Niveles de 500 ml de glicerol, o aproximadamente el 3,1% de la MS de la ración, tres semanas antes del parto y hasta 70 días de lactancia aumentaron la producción de leche y el contenido de proteínas lácteas (Bodarski *et al.*, 2005). Estos trabajos indican que el glicerol puede añadirse a las dietas de vacas lactantes a un nivel de al menos el 10% de MS sin tener efectos perjudiciales, y en algunos casos se han producido efectos benéficos en la producción y composición de la leche.

León *et al.*, (2010) en México observaron que la administración de 900 ml de glicerol el día de la inseminación y a los 2,4 y 6 días posteriores elevó los niveles de insulina y mejoró los porcentajes de preñez en vacas con condición corporal de 2.5-3.0. En Colombia, Benitez *et al.*, (2011) realizaron un ensayo sustituyendo el 35% del concentrado en vacas lecheras por 600 ml de glicerol, encontrando que las vacas mantuvieron su producción y calidad de leche con ahorros de 24% en los costos de alimentación.

### **2.6.2 Ovinos de engorda y lactantes.**

Terré *et al.*, (2013), evaluaron el uso de tres niveles de glicerina (0, 5 y 10%) en corderos de engorda y ovejas en lactación (Cuadros 1 y 2). Con resultados similares a la dieta testigo por lo que encontraron que es posible incluir hasta 10% de la dieta sin afectar los parámetros productivos.

**Cuadro 1.** Parámetros productivos de corderos alimentados con una ración con glicerol.

	Tratamientos <sup>a</sup>				p-valor <sup>b</sup>		
	0G	3G	5G	EEM <sup>c</sup>	T	t	Txt
Peso inicial, kg	15.3	15.3	15.3	1.3	-	-	-
Peso cuarta semana, kg	22.6	23.2	23.0	0.67	0.58	<0.001	0.03
GMD, kg/d	0.27	0.28	0.29	0.030	0.94	0.11	0.01
Consumo de alimento kg/sem	4.10	4.15	4.35	0.554	0.94	<0.001	0.74
Consumo de paja kg/sem	2.4	2.1	1.9	0.19	0.31	0.29	0.84
Índice de conversión alimenticia	0.46	0.47	0.46	0.067	0.99	0.23	0.46
Índice de conversión total	0.38	0.35	0.32	0.51	0.64	0.002	0.70
Consumo de agua L/sem	6.8	10.0	9.3	1.96	0.54	0.004	0.19
Rendimiento de la canal %	43.1	43.1	44.7	0.65	0.94	-	-

<sup>a</sup> porcentaje de inclusión de glicerina en la dieta; T<sup>b</sup> Efecto de la inclusión de glicerina en dieta; t<sup>b</sup> Efecto del tiempo; Txt<sup>b</sup> Interacción de nivel de inclusión y efecto del tiempo; EEM<sup>c</sup> Error estándar de la media (Terré et al., 2013).

**Cuadro 2.** Parámetros productivos de ovejas alimentadas con una ración con glicerol a lo largo de la lactación

	Tratamientos <sup>a</sup>				p-valor <sup>b</sup>		
	0G	3G	5G	EEM <sup>c</sup>	T	t	Txt
Condición corporal	2.5	2.6	2.6	0.08	0.59	<0.001	0.26
Consumo de alimento kg/MS	1.3	1.3	1.3	-	-	-	-
Consumo de paja kg/MS	0.80	0.76	0.77	0.041	0.80	0.37	0.48
Consumo de agua L/día	4.1	3.0	3.5	0.81	0.66	0.19	0.92
Índice de conversión alimenticia	0.46	0.47	0.46	0.067	0.99	0.23	0.46
Índice de conversión total	0.38	0.35	0.32	0.051	0.64	0.002	0.70

<sup>a</sup> porcentaje de inclusión de glicerina en la dieta; T<sup>b</sup> Efecto de la inclusión de glicerina en dieta; t<sup>b</sup> Efecto del tiempo; Txt<sup>b</sup> Interacción de nivel de inclusión y efecto del tiempo; EEM<sup>c</sup> Error estándar de la media (Terré et al., 2013).

## **2.7 Factores que influyen en el rendimiento de la canal en ovinos.**

### **2.7.1 Raza o genotipo.**

La expresión de las características de raza o genotipo están ligadas a condiciones climáticas y disposición de forraje. Es bien conocido que existen diferencias en calidad dentro de una misma raza y sobre todo entre razas, esto debido en parte, a la madurez fisiológica que tiene influencia sobre las características de la canal (Snowder *et al.*, 1994). Sin embargo, esto no concuerda con un estudio realizado por Gutiérrez *et al.*, (2005) donde evaluaron las cruzas de Pelibuey con Rambouillet y Suffolk y vieron que el rendimiento de la canal de borregos Pelibuey no se afectó por el cruzamiento con Rambouillet o Suffolk.

### **2.7.2 Sexo.**

Los machos enteros tienen músculos de color más oscuro que las hembras por la mayor cantidad de mioglobina, la textura de los músculos de los machos es más basta, pero en las hembras es más dura que la de los machos o animales castrados (Alarcón, 2005). Kremer *et al.* (2004) evaluaron el efecto del sexo sobre la característica de la canal en ovinos y encontraron en las hembras mayor porcentaje de la canal, mayor porcentaje de grasa y hueso que en los machos. Ferreira *et al.*, (2004) evaluaron el efecto del sexo en animales Santa Inés puros (SS) y sus cruzas con Texel (TS), Ile de France (FS) y Bergamacia (BS). Los corderos fueron sacrificados a los 15, 25, 35 y 45 kg de peso vivo. A los 45 kg los corderos TS y FS presentaron mayor porcentaje de paleta que los corderos SS y BS y las hembras mayor porcentaje de paleta que los machos. En la última fase, las hembras mostraron mejores rendimientos de canal que los machos y a los 45 kg los machos TS reportaron el mejor rendimiento. Por su parte, López *et al.*, (2000) evaluaron cruzas de Pelibuey con Rambouillet y Suffolk y encontraron que las hembras presentaron más grasa y menos colágeno que los machos. Garibotto *et al.* (2003) reportaron que corderos machos Corriedale tuvieron canales más pesadas que las hembras con mayores pesos al sacrificio.

### **2.7.3 Alimentación.**

El factor nutricional en una explotación se considera muy importante debido a que la alimentación tiene mayor influencia sobre los parámetros productivos (Esqueda, 2005) y características de la canal. Tonetto *et al.*, (2004) evaluaron las canales de corderos Texel X Ile de France, encontrando un mayor rendimiento de la canal caliente en los corderos alimentados con rye grass (*Lolium multiflorum*) y menos grasa dorsal que en los corderos que eran alimentados con pasto natural y a los mantenidos en confinamiento. McClure *et al.*, (1994) reportaron canales más livianas, con menos músculo, grasa y hueso en corderos pastoreando comparados con corderos alimentados con alfalfa o concentrado, mientras que los corderos alimentados con alfalfa tuvieron menos grasa pero igual masa muscular comparados con los corderos alimentados con concentrado.

### **2.8 Genes involucrados en el rendimiento de la canal de ovinos.**

En 1983, un fenotipo de musculatura única fue descubierto en ovinos que mejora el rendimiento general, esta mutación se identifica por la extensa acumulación de músculo postnatal en los cuartos traseros y el lomo de los animales afectados, Este patrón se utilizó posteriormente para identificar esta variante como Callipyge (CLPG), que proviene del griego que significa "hermosas nalgas" (Cockett *et al*, 1997) (Cockett *et al*, 1993).

Los investigadores han determinado que el fenotipo CLPG es un solo gen que es dominante cuando es heredado del padre. La ocurrencia de este fenotipo es 50% cuando un macho heterocigótico se aparea con hembras no portadoras. Sin embargo, el apareamiento de hembras portadoras heterocigotas con machos no portadores resulta en el 100% del fenotipo normal. Cuando los corderos a partir de los últimos apareamientos son fenotipados, el 50% llevan el gen CLPG, lo que resulta en la expresión CLPG 50% en corderos producidos a partir de estos machos cuando se aparearon con las hembras no portadoras. Este patrón de herencia única se ha denominado sobredominancia "polar" (Cockett *et al*, 1996, Freking *et al*, 1998). Estudios de mapeo preliminares usando marcadores de ADN de la especie bovina determinaron que el locus CLPG está en el cromosoma 18 ovino (Cockett *et al*, 1994). Posteriormente,

un grupo de enlace de 25 loci de marcadores que abarcan 87.2 cm se ha usado para determinar que el gen CLPG se encuentra dentro de la región telomérica del cromosoma 18 ovino (Freking *et al*, 1998, Lien *et al*, 1999).

## **2.9 Características fenotípicas de los ovinos.**

Los resultados de genes CLPG en un fenotipo son muy diferente de otras mutaciones que causan hipertrofia muscular, como lo demuestra la falta de distocia o reducción de la tasa de crecimiento que se asocia con otras mutaciones musculares (Webb *et al*, 1986). El fenotipo CLPG no se expresa hasta los 4 a 6 semanas después del nacimiento. Las investigaciones actuales indican que las ovejas que expresan el fenotipo CLPG no tienen las características negativas asociadas con doble musculatura en otras especies pecuarias (Jackson *et al*. 1997). Jackson *et al*. (1997) llevaron a cabo una serie de investigaciones para determinar los efectos de la mutación en CLPG comercialmente importantes, para lo cual midieron parámetros de rendimiento de 311 ovejas, encontrando que no hubo diferencias significativas detectadas por distocia entre CLPG y ovejas normales ( $P < 0.10$ ), estos datos indican que los animales normales y CLPG no se pueden distinguir al nacimiento.

## **2.10 Efectos del gen *Callipyge* en el rendimiento de la canal y ganancia diaria de peso en ovinos.**

Para determinar características de la canal del fenotipo CLPG, se realizaron disecciones de la canal en corderos normales y CLPG de 54.5 kg de peso vivo. No hubo diferencias significativas en ningún peso de los órganos internos, con excepción del intestino grueso, que era mayor en los animales normales ( $P < 0.05$ ) (Frenking *et al*., 1998). Además, no se observaron diferencias en cualquiera de las mediciones lineales incluyendo la altura o la longitud de la canal. Después de la disección y pesar 19 grupos de músculos de importancia económica, se determinó que los corderos CLPG tenían 30% mayor peso muscular en general que los animales testigo. Los corderos CLPG tuvieron un aumento del 5% en el rendimiento de la canal, área del ojo del lomo 70% más grande, y una puntuación más alta de las piernas y de conformación, en

comparación con los testigos. Los corderos que expresaron el gen CLPG tuvieron una mayor (40.2% vs 32.9%) porcentaje de rendimiento sin hueso; mayor contenido de proteína (16.6% vs 15.2%), humedad (63.6% vs 58.6%), y cenizas (0.85% vs 0.077%) y un porcentaje de grasa inferior (18.9% vs 25.4%). Los músculos de los cuartos traseros de cordero CLPG, incluyendo el aductor (30%), bíceps femoral (42%), el grupo de glúteo (31%), *Longissimus* (18%), semimembranoso (38%), y semitendinoso (26%), fueron significativamente más pesados en los fenotipos CLPG ( $P < 0,01$ ). La mayor parte del aumento de la masa muscular de los corderos CLPG parece estar concentrado en el área de la pata trasera y el lomo (Jackson *et al.*, 1997).

### **2.10.1 Características del músculo.**

El examen histológico de los fenotipos CLPG reveló un mayor porcentaje de fibras de contracción rápida del músculo (glucolíticas) ( $P < 0,001$ ) y un menor porcentaje de contracción lenta (oxidativo) y de contracción de fibras musculares glucolíticas lentas. El porcentaje de degradación de la proteína se redujo en los animales CLPG como se indica por un aumento en la actividad de la calpastatina inhibidor de la proteasa ( $P < 0,05$ ) (Lorenzen *et al*, 2000). La tasa de degradación de la proteína fraccionada para fenotipos CLPG se redujo significativamente en comparación con los animales testigo. Corderos normales tuvieron 2.3 g/d menos en la acumulación de proteínas que los animales CLPG y 6.9 g/d en grasa acumulada. La grasa corporal total y magra de las canales normales fueron 31.5 y 64.0%, respectivamente, mientras que los animales CLPG reportaron 24.3% de grasa y magra 71.3% (Freking *et al*, 1998). El aumento general de musculatura en corderos CLPG puede ser consecuencia de un aumento en la proliferación celular en combinación con una disminución de la degradación de la proteína muscular (Stockdale, 1992).

Por lo tanto, la expresión del fenotipo CLPG a las 4 semanas de edad resulta en músculos más grandes (hipertrofia) y no en un aumento del número de fibras musculares (hiperplasia).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general.**

Evaluar el comportamiento productivo y calidad de la canal en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol.

#### **3.2 Objetivos específicos.**

1. Analizar el comportamiento productivo en ovinos (ganancia diaria de peso, consumo de materia seca, conversión alimenticia) alimentados con cuatro niveles de glicerol (0%, 5%, 10%, 15%).
2. Determinar el rendimiento de la canal de ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol.
3. Analizar la frecuencia alélica del gen *Callipyge* en ovinos y determinar su efecto en el rendimiento de la canal.

### **4. HIPÓTESIS**

La inclusión del 15% de glicerol en la dieta mejorará los parámetros productivos y calidad de la canal en ovinos.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Localización del área experimental.**

La presente investigación se llevó a cabo en el Colegio de Posgraduados Campus Montecillo ubicado en la Carretera México – Texcoco km 36.5, Montecillo, municipio de Texcoco, Estado de México.

### **5.2 Unidades experimentales.**

Se utilizaron 30 borregos machos de la raza Suffolk-Katahdin, con edad promedio de 60 días y peso promedio de  $24 \text{ kg} \pm 3 \text{ kg}$ . Se desparasitaron con Albendazol aplicando  $5 \text{ mg/kg}$  de peso. Los animales se alojaron en jaulas individuales con agua y alimento a libre acceso, el alimento se ofreció dos veces al día, a las 9 am y 4:00 pm. Los animales tuvieron un periodo de adaptación a la dieta de 20 días.

### **5.3 Tratamientos.**

Se utilizaron cuatro dietas integrales con diferentes niveles (0%, 5% 10% 15%) de glicerol (Cuadro 3), distribuidos en cuatro tratamientos con 10 repeticiones cada uno. Los tratamientos se asignaron en forma aleatoria. Las dietas fueron isoproteicas e isoenergéticas (NRC, 2007).

**Cuadro 3.** Dietas experimentales.

<b>Ingredientes</b>	<b>Tratamiento 1</b>	<b>Tratamiento 2</b>	<b>Tratamiento 3</b>	<b>Tratamiento 4</b>
Alfalfa	12	14	13	14
Maíz	30	28	24	20
Rastrojo	9	7	8	7
Melaza	4	4	4	4
Sorgo	32	28	25	23
Soya	10	11	13	14
Urea	1	1	1	1
Minerales	2	2	2	2
Glicerol	0	5	10	15

\*Requerimientos de acuerdo a NRC, 2007.

## **5.4 Variables evaluadas**

### **5.4.1 Ganancia diaria de peso (GDP).**

Se pesaron los corderos al inicio del experimento, y posteriormente antes de ofrecer el alimento cada 14 días (9:00 am), hasta finalizar los 60 días de la prueba de comportamiento productivo. La GDP se obtuvo por la diferencia de peso entre el número de días transcurridos entre las dos pesadas.

### **5.4.2 Consumo de materia seca (CMS).**

El CMS se calculó de manera individual en periodos de 24 h, por la diferencia de peso entre el alimento ofrecido y rechazado.

### 5.4.3 Conversión alimenticia (CA).

La CA se determinó como la relación entre GDP y la CMS de forma individual en cada periodo de pesaje.

### 5.4.4 Rendimiento de la canal.

Se evaluaron las características de la canal en cinco animales de cada tratamiento, los animales tuvieron un ayuno de 12 h previo al sacrificio, el cual se realizó de forma convencional, mediante el corte de la yugular. Se tomó el peso de las proporciones corporales (sangre, piel, cabeza, patas, vísceras verdes, vísceras rojas, grasa de vísceras y contenido gastrointestinal).

### 5.4.5 Búsqueda de la secuencia del gen (CLPG) para sintetizar el iniciador.

El iniciador se sintetizó a partir de una secuencia parcial del gen Callipyge de 493 pb, la cual se obtuvo del GenBank con un número de acceso de AF401294.1

#### Secuencia parcial del gen callipyge (CLPG).

```
TGAAAACGTGAACCCAGAAGCATCCGGGTGACTTTCCCCCAAACCACAGGTGACCAGCAGCAGAGCAGA  
GACACGGGGCCGGGTTTGCCACACCTGCAGTAGGCGTGGGCGACCGAGGAGGTAGCCCCAGGAGGCTG  
CCAGGAGACCCCGAGGCTGCTCAGAGAGGCCAGATGCTGTGGACGTGGGGAATCATCGTGTCTGCTTA  
TTTTCGGGCCTCTGCTGAGAGCGCAGGAATCCAGGCGAAGGGGCCCGAGGGCTGGGACCACCTGTCAGAT  
CCTTTCCCCAGCTGAAGGCAGGGTGTGGGTGATCCAGGGCCGGAAAAAGTCAAGGCCACCTCCAAGCCTT  
CCAATTTTAGAGCTGCACGTCTCCAGCTCCGGGACACGGAGTATCCTGCTGGGGCTCGAGAGGACCTATT  
TAGGACCAAACAGACCCTTGCCCCAGATCCCGCCAACATCCCCTCAATCTTTCATTAACCGTCTCTCCT  
GCC
```

Obteniendo los siguientes iniciadores.

**Cuadro 4.** Iniciadores sintetizados para el gen *Callipyge*.

Descripción de secuencia	Pares de base (pb)	Secuencia
Forward	18 pb	AACGTGAACCCAGAAGCA
Reverse	19 pb	GGAGACGTGCAGCTCTAAA

#### **5.4.6 Obtención de la muestra.**

La muestra de músculo se obtuvo del musculo semitendinoso ubicado en los cuartos traseros del animal en el momento de sacrificio; las muestras se colocaron en nitrógeno líquido y posteriormente en el ultra congelador para conservar íntegramente el material genético.

#### **5.4.7 Extracción y calidad de ADN para determinar la presencia del gen (CLPG).**

La extracción se realizó con el kit comercial ChargeSwitch® gDNA Plant Kit de invitrogen™. Se añadieron 600 µL de solución de lisis (Lysis Buffer (L18)), 30 µL de sangre y 100 µL de reactivo A (Lysis Buffer, PBP 10, y cloruro de Calcio), en un tubo de eppendorf de 2 mL, posteriormente se homogenizó la mezcla con un triturador TissueLyser II (Marca Quiagen) durante 3 min. Se le añadieron 300 µL de lisis y 100 µL de reactivo A; después se agregaron 2 µL de RNAsa a la mezcla. Posteriormente se agitó en el vortex durante 15 seg, en seguida se agregaron 100 µL de SDS (Dodecil sulfato de sodio al 10%), al lisado, y se agitó en el vortex por 15 seg

. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5 min. Después se añadieron 400 µL de buffer de precipitado (N5), se agitó en el vortex por 30 seg para centrifugar a 15,000 rpm durante 15 min. Se realizaron lavados con el Robot (Thermo Scientific®, King Fisher Flex, Waltham, MA) de la siguiente manera; una placa con detergente D1 (Detergente al 10%) y perlas magnéticas (25 mg/mL en 10 mM MES, pH 5.0, 10 mM NaCl, 0.1% Tween 20), en una relación (80:40); se transfirió cuidadosamente el sobrenadante a la placa, en la cual se depositó el sobrenadante, seguido de tres placas de lavado con reactivo buffer de lavado (W12), 750 µL buffer de precipitado por pozo; donde se realizaron lavados al sobrenadante, y una placa con buffer de elución (E6; 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 with 1 mM EDTA). Se depositó el ADN al terminar el proceso de lavado. Para evaluar la calidad y cantidad del ADN se colocó 1 µL de cada muestra en un espectrofotómetro (NanoDrop 2000, Thermo Scientific), mediante la absorbancia a longitudes de onda de 260 y 280 nm. Finalmente se realizó la dilución de las muestras; ajustándolas a una concentración de 10 ng de ADN µL de solución.

#### 5.4.8 PCR en punto final.

La mezcla de reacción constó de un volumen total de 25  $\mu\text{L}$ , compuesta de 5  $\mu\text{L}$  de Buffer 5X (Promega), 2  $\mu\text{L}$  de mM de  $\text{MgCl}_2$  (Promega), 0.5  $\mu\text{L}$  mezcla de DNTPs (Promega), a 2 mM, 0.5  $\mu\text{L}$  de cada iniciador 10 pmol, 0.4  $\mu\text{L}$  Taq polimerasa (Promega), y 2  $\mu\text{L}$  de ADN a una concentración de 20 ng/ $\mu\text{L}$ . La amplificación se realizó en un termociclador (Marca; Bio-Rad C1000<sup>TM</sup> Thermal cycler, USA) con las siguientes etapas: desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, seguido de un desnaturalización de 94°C por 45 seg durante 35 ciclos, con una etapa de alineación por grupos; 53.7°C durante 1 min, seguido de una extensión de 72°C por 1 minuto, y una extensión final a 72°C durante 10 min.

## 6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y diez repeticiones por tratamiento. Los datos se analizaron mediante el procedimiento PROC GLM de SAS 9 (2002). La comparación de medias de los tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey. Para la variable de rendimiento de canal se hizo una transformación de arco seno.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$T_i$  = Efecto del tratamiento i.

$E_{ij}$  = Error aleatorio

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Parámetros productivos

No se encontraron diferencias entre tratamientos en el peso inicial ( $P > 0.05$ ), teniendo los siguientes valores (24.06, 23.78, 24.59 y 23.93 kg) (cuadro 5). La ganancia diaria de peso (GDP) fue de 0.36, 0.38, 0.36 y 0.33 kg día<sup>-1</sup> para los tratamientos T1, T2, T3, y T4 respectivamente, estos resultados coinciden con Benítez (2011) quien evaluó diferentes niveles de inclusión de glicerina cruda con pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) en dietas para borregos, sin encontrar diferencias significativas en la GDP. De igual manera, Dos Santos *et al.* (2015) evaluaron distintos niveles de glicerina bruta (0, 4, 8 y 12 %) en dietas para cabritos, sin observar diferencias entre tratamientos ( $P > 0.05$ ), lo cual coincide con los resultados obtenidos en este trabajo. Sin embargo, Carvalho *et al.* (2015) proporcionaron diferentes niveles de glicerol en la dieta de corderos (0, 2.65, 5.33, 8.06 y 10.84 %) y encontraron valores de 0.01, 0.08, 0.10, 0.09 y 0.06 kg día<sup>-1</sup>, respectivamente, por debajo de los obtenidos en este trabajo. Las diferentes respuestas al consumo de glicerol en la GDP pueden deberse a la tasa de fermentación que tiene el glicerol en el rumen en relación a su grado de pureza, mientras mayor es su pureza la tasa de fermentación es mayor (Donkin, 2008), siendo más elevada que la del maíz, lo que favorece la utilización de urea en el rumen, con lo cual se incrementa la población microbiana, que a la vez aumenta la digestibilidad del alimento.

El glicerol que no es fermentado en el rumen se absorbe en forma de ácido propiónico y es sintetizado como glucosa, lo cual se ve reflejado en una mayor producción de carne y por ende una mayor GDP (Donkin, 2008). Sin embargo, el que no se hayan observado diferencias entre tratamientos en el presente trabajo, puede deberse al hecho que la inclusión de glicerol sustituyó parcialmente a los granos dieta sin afectar la cantidad de energía total, ya que las dietas ofrecidas en todos los tratamientos fueron isoenergéticas, con un valor de 2.9 McalEM. Considerando el valor total de la energía presente en la dieta, la GDP coincide con lo estimado por el NRC (2007), que señala que para una GDP de 0.30 – 0.40 kg día<sup>-1</sup> se necesitan 2.8 Mcal kg<sup>-1</sup> MS en borregos de lana.

El consumo de materia seca (CMS) (cuadro 5) no mostró diferencias ( $P>0.05$ ) entre tratamientos, siendo diferente a lo reportado por Carvalho *et al.* (2015) con valores de CMS (0.94, 0.78, 0.76, 0.71 kg), por debajo de los reportados en este trabajo, estos valores pueden deberse al nivel de pureza del glicerol ofrecido en el presente trabajo que fue de 99.7%, en comparación con el proporcionado por Carvalho *et al.* (2015), ya que estos autores reportan que la glicerina bruta ofrecida a los ovinos tenía niveles de 43.9 % de glicerol y 6.0 % de metanol. Por su parte Lage *et al.*, (2010) ofrecieron glicerina bruta con niveles de 46.4 % de glicerol y 8.6 % de metanol, concluyendo que la glicerina bruta con niveles elevados de metanol causa el rechazo del alimento y por consiguiente puede verse afectado el CMS en los animales. Los valores reportados en el presente estudio pueden deberse al grado de pureza del glicerol (99.7 %, <1 % metanol) que se utilizó, que favoreció un mayor CMS en comparación con los trabajos donde el porcentaje de metanol en el glicerol era mayor. Chanjula *et al.* (2014) proporcionaron diferentes niveles de glicerol (0, 5, 10 y 20 %) en dietas para cabras, sin observar diferencias en el CMS, el glicerol que ofrecieron tenía un grado de pureza de 87.61% y 0.64% de metanol, mayor al porcentaje de metanol (<1 %) que contenía el glicerol usado en el presente trabajo y a la respuesta de los animales en relación al CMS.

En cuanto a la conversión alimenticia (CA) tampoco se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) (cuadro 5), siendo T2 el que mejor CA mostró (4.08), en comparación con los otros tratamientos (T1 4.30, T3 4.80, T4 4.63). En este tratamiento se observó el mayor CMS y la mayor GDP durante toda la engorda, lo que coincide con la recomendación hecha por FEDNA (2012), que señala que la inclusión del 5 % de glicerol con una pureza de mínimo 85 % es la más adecuada en esta etapa. Hess *et al.* (2008) mencionan que el glicerol se podría añadir hasta en 15% a la alimentación de rumiantes, lo cual tiene relación con los resultados obtenidos en este trabajo, pues la respuesta en la GDP y CMS fue similar en todos los tratamientos y por lo tanto también en la CA.

Del mismo modo no se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) en el PF (cuadro 5). En T2 se observaron los mejores resultados (47.06 kg) en comparación con el resto de los tratamientos (T1 46.05, T3 44.81 y T4 43.96 kg), Estos pesos son superiores a los reportados por Pellegrin *et al.* (2013) quienes incluyeron glicerol en la dieta de borregos

en niveles de 0, 10, 20 y 30%, obteniendo pesos finales de 28.79, 29.72, 29.6 y, 29.30 kg, respectivamente. De igual manera, De Almeida *et al.* (2015) al agregar 0, 7, 14 y 21 % de glicerol en dietas para borregos, tuvieron pesos finales de 36.26, 38.32, 25.95 y 36.11 kg, respectivamente; también por debajo a los reportados en este trabajo, lo que puede deberse a la calidad y pureza del glicerol ofrecido, pues es de esperarse que si la calidad del glicerol tiene un efecto en el consumo de materia seca y ganancia diaria de peso, también se verá reflejado en el peso final.

**Cuadro 5.** Parámetros productivos de ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol.

	TRATAMIENTOS				EMM	P>F
	T1	T2	T3	T4		
PI	24.06	23.78	24.59	23.93	2.59	0.91
GDP	0.36	0.38	0.36	0.33	0.06	0.18
CMS	1.56	1.57	1.51	1.52	0.15	0.79
CA	4.30	4.08	4.80	4.63	0.75	0.18
PF	46.05	47.06	44.81	43.96	5.18	0.59

Error estándar de la media (EEM). Peso inicial kg (PI). Ganancia diaria de peso kg (GDP). Consumo de materia seca kg (CMS). Conversión alimenticia (CA). Peso final kg (PF).

## 7.2 Rendimiento de la canal

Las medias de los diferentes tratamientos no presentaron diferencias ( $P>0.05$ ) en el peso vivo (PV) al sacrificio. T3 fue el que mostró el mayor peso (51.52 kg), en comparación con T1 (51.11 kg), T2 (50.81 kg) y T4 (48.70 kg) respectivamente (cuadro 6). Sin embargo, Avila *et al.* (2013) reportaron valores similares en el PV al sacrificio (52.00, 53.00, 49.70 y 50.00 kg) al evaluar el incremento en las concentraciones (0, 7, 14 y 21 %) de glicerol en dietas para borregos.

El peso de la canal caliente (PCC) tampoco fue diferente ( $P>0.05$ ) entre tratamientos (cuadro 6), mostrando T3 (25.98 kg) el mayor peso y T4 el de menor valor

(24.80 kg), estos pesos son superiores a los encontrados por De Almeida *et al.* (2015), quienes reportan valores de 16.56, 17.22, 16.43 y 16.64 kg, al utilizar 0, 7, 14 y 21 % de glicerol en dietas para borregos. Por su parte, Merlim *et al.* (2016) evaluaron inclusiones de 0, 100 y 200 g kg<sup>-1</sup> MS en dietas para borregos y su efecto en la canal obteniendo valores de PCC (14.63 kg, 14.57 kg y 13.85 kg) por debajo por los reportados en este trabajo. El PCC está estrechamente relacionado con el peso final del animal, Dos Santos *et al.* (2001) mencionan que las curvas de crecimiento de los tejidos están en función del aumento de peso y edad de los animales, por lo tanto, una mayor respuesta en la GDP y CMS se verá reflejado en el peso final y en el PCC.

Para los valores de rendimiento de la canal caliente (RCC) no se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos, los promedios en los rendimientos obtenidos en este trabajo son superiores a lo reportado por Carvalho *et al.* (2011) donde se tuvieron valores de RCC de 49.34, 46.45, 44.56, 47.32 y 44.66% respectivamente, los cuales son inferiores a los obtenidos en este trabajo (49.61, 50.30, 50.30 y 51.93) (cuadro 6). Gunn *et al.* (2010), evaluaron niveles crecientes de glicerina bruta (0, 15, 30 y 45%) en la dieta de ovinos en el peso de la canal, obteniendo valores similares a los reportados en este trabajo. Por otro lado, Merlim *et al.* (2015) analizaron dietas para ovinos con inclusiones de 0, 100 y 200 g kg<sup>-1</sup> MS de glicerina y su efecto en la canal de borregos, los resultados obtenidos en el RCC fueron de 46.94 %, 46.86 % y 45.45%, considerando como un nivel óptimo la inclusión de 100 g kg<sup>-1</sup> MS presentando una respuesta en el RCC inversamente proporcional al incremento del glicerol en la dieta ya que se encontró una reducción en el RCC de 46.94 % a 45.45 % con inclusiones de 0 g kg<sup>-1</sup>, 100 g kg<sup>-1</sup>, 200 g kg<sup>-1</sup>. Pellegrin *et al.* (2015) observaron un efecto negativo en el RCC (51.52 % a 48.90 %) al incrementar la inclusión del glicerol (hasta el 30%) en dietas para borregos, estos comportamientos no coinciden con lo encontrado en el presente trabajo, ya que el RCC fue proporcional a la inclusión de glicerol (0 % hasta un 15 %) teniendo valores de 49.61 % a 51.93 %, respectivamente.

Cunha y Santos (2000) señalan que el incremento del peso al sacrificio modifica la proporción de los componentes de la canal, aumentando los porcentajes de grasa, disminuyendo la de hueso, observando poco o ningún cambio en el porcentaje de músculo, lo cual coincide con lo encontrado en este trabajo, ya que el T1 (51.11 kg)

presentó mayor peso al sacrificio en comparación con T4 (48.70 kg) que tuvo un menor peso, sin embargo en el RCC el T4 (51.93 %) fue el que tuvo la mejor respuesta en comparación con T1 (49.61%) que fue el menor.

El promedio obtenido en el RCC en comparación con otros autores se puede deber a un mayor aprovechamiento de la energía proporcionada por el glicerol y su efecto en la retención de nitrógeno. Sarwar *et al.* (2013) mencionan que la cantidad de nitrógeno retenido depende de la ingesta de nitrógeno y la cantidad de carbohidratos fermentables de la dieta, Además, Cronje (1992) encontró que un bajo aporte de energía en la dieta reduce el porcentaje de retención de nitrógeno en cabras alimentadas con niveles adecuados de proteína y que el reciclaje de nitrógeno aumenta a medida que aumenta el suministro de energía, pudiendo ser esta la razón por la que se obtuvieron RCC mayores, ya que el glicerol que se dio a los animales era grado alimenticio (99.7% de pureza), lo que pudo favorecer la fermentación ruminal y asimilación por parte del animal. Otros autores reportan que el grado de pureza del glicerol que han suplementado es de 80-85 %, con lo que han obtenido valores de RCC por debajo de los observados en este trabajo.

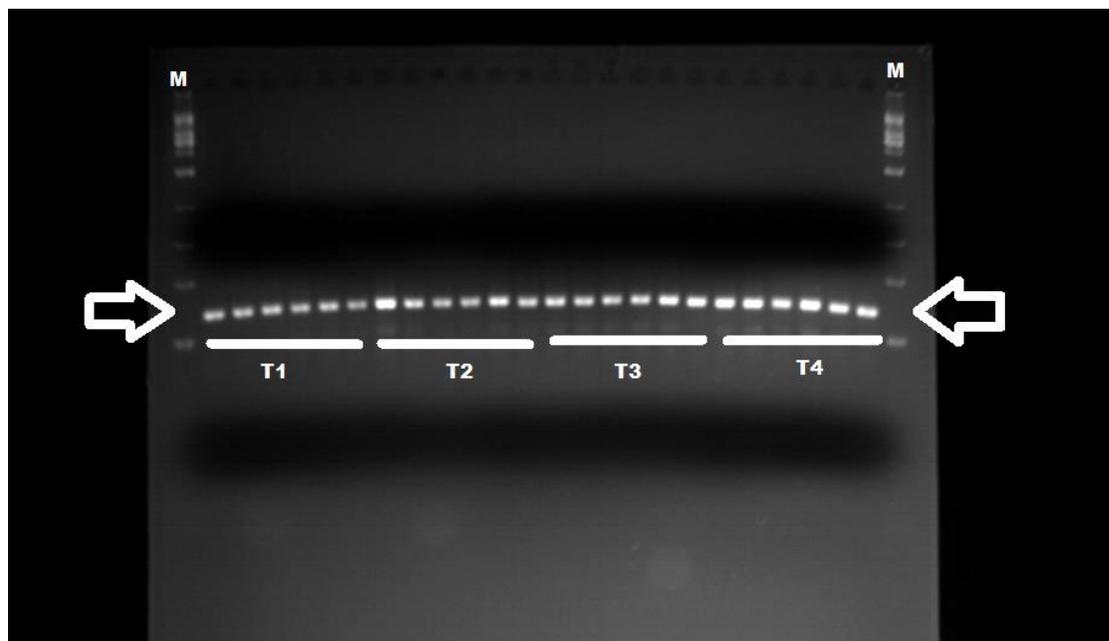
El pH de la canal caliente fue similar en todos los tratamientos ( $P>0.05$ ) (cuadro 6), con valores de 7.40, 7.30, 7.20, 7.70 para T1, T2, T3 Y T4 respectivamente, estos valores se pueden deber a que el pH del tejido muscular del animal vivo es prácticamente neutro. Cuando el animal muere, el músculo se ve privado de riego sanguíneo y por lo tanto de oxígeno. Esto hace que se bloquee la síntesis de ATP, (que es la fuente ordinaria de obtención de energía muscular) con lo cual el músculo se ve obligado a adquirir esa energía por vía anaerobia a partir del glucógeno de reserva, dando lugar a la producción de ácido láctico lo cual genera un descenso del pH posteriormente (Monin, 1988). Tampoco se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) en la temperatura de la canal entre tratamientos (cuadro 6), obteniendo el valor más alto de 24.10°C en T1 y el menor de 23.12°C en T2.

**Cuadro 6.** Variables de rendimiento de la canal en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol.

	TRATAMIENTOS				EMM	P>F
	T1	T2	T3	T4		
PV al sacrificio	51.11	50.81	51.52	48.70	3.08	0.40
PCC kg	25.40	25.50	25.98	24.80	1.39	0.64
RCC %	49.61	50.30	50.30	51.93	5.56	0.90
pH de la canal	7.40	7.30	7.20	7.70	0.53	0.34
T° de la canal	24.10	23.80	23.53	23.12	1.45	0.71

Error estándar de la media (EEM). Peso vivo al sacrificio kg (PV). Peso de canal caliente kg (PCC). Porcentaje del rendimiento de la canal caliente (RCC %). Temperatura de la canal caliente en grados Celsius (T°).

### 7.3 Polimorfismo del gen *Callipyge* en gel de agarosa al 3 %.



**Figura 4.** Resultados monomórficos del gen *Callipyge* en ovinos alimentados con diferentes niveles de glicerol en gel de agarosa al 3 % con una escalera molecular de 1kb.

Los resultados del producto de PCR para el gen *Callipyge* (CLPG) no mostraron variabilidad en el gen (figura 4), presentando un peso molecular de las bandas de 653 pb. Este resultado puede deberse a que los individuos pertenecían a la misma población y a la selección que existe basada en características fenotípicas de los animales por parte del productor, provocando con esto la eliminación de individuos con las menores ganancias de peso dentro de la población, ya que este gen tiene un efecto significativo sobre el desarrollo muscular, la composición de la canal y la calidad de la carne ( Koohmaraie *et al.*, 1995 ; Freking *et al.*, 1999 ) lo que podría explicar la presencia del gen en los individuos analizados. Estos resultados coinciden con Paz *et al.* (2012) quienes evaluaron la variabilidad de genes responsables de la prolificidad, encontrando una respuesta monomórfica en el SNP G8, relacionando esta respuesta con la selección de hembras por parte de los productores en la misma población.

Sin embargo se sabe que el estado del genotipo *CLPG* no altera la polaridad de impresión de estos genes, pero sí afecta el patrón de expresión de varios transcritos del intervalo *CLPG* durante el desarrollo muscular (Bidwell *et al.*, 2001). Nanekarani *et al.* (2014) analizaron el polimorfismo del gen *Callipyge* en ovejas Lori por el método de PCR-RFLP, concluyendo que el locus *CLPG* es monomórfico para la población de ovejas mantenidas en Irán detectando el genotipo AA con frecuencia 1.00, lo cual concuerda con lo descrito en este trabajo. Así mismo, Gabor *et al.* (2009) también reportan una respuesta monomórfica en ovinos de la raza Tsigá. Los resultados reportados en este trabajo coinciden con los obtenidos por Quanbari *et al.* (2007) quienes observaron un comportamiento monomórfico del gen *Callipyge* en ovinos de la raza Afshari.

Estos resultado sugiere que el gen no tuvo efecto en los tratamientos evaluados, ya que todos los individuos utilizados en este estudio fueron similares genotípicamente para el gen *CLPG*. Sin embargo, no se puede determinar el grado de incidencia del gen en la respuesta a la GDP y RCC, pues es necesario determinar el nivel de expresión del gen y el efecto en su comportamiento al proporcionar glicerol a los animales.

## **8. CONCLUSIONES**

La inclusión de glicerol en la dieta de ovinos es posible, debido a su velocidad de fermentación en el rumen, además de que no afecta las variables productivas, siendo la inclusión del 5 % de glicerol en la dieta, la que mejor comportamiento productivo mostró en este trabajo.

El rendimiento de la canal caliente, no se vio afectado por el nivel de inclusión de glicerol en la dieta, tipo de tratamiento, ya que se observó un aumento numérico en los tratamientos que contenían glicerol en relación al que no se agregó.

Los resultados mostraron una respuesta monomórfica para el gen callipyge lo cual sirvió para determinar el efecto de la dieta en la respuesta productiva y rendimiento de la canal de los animales, esto sin determinar los niveles de expresión siendo importante considerarlo pues, si el gen no tuvo un efecto en el rendimiento y aprovechamiento del animal, se desconoce si el alimento tuvo un efecto en la expresión del gen.

## 9. LITERATURA CITADA

Ayoub, M., abdullah A. 2012. "Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable renewable energy industry". *renewable and sustainable energy reviews*. 16: 2671-2686.

Adhikari, S., Fernando S. y Haryanto A.. 2007. Producción de hidrógeno por reformado con vapor de glicerina sobre catalizadores metálicos soportados por alúmina. *catalysis today* 129: 355-364. [enlaces] angelidaki, i. y l. ellegaard. 2003. co-digestión de estiércol y desechos orgánicos en plantas de biogás centralizadas, estado y tendencias futuras. *applied biochemistry and biotechnology* 109: 95-105.

Annison, E. F., Hill F. J. and Lewis D. Studies on the portal blood of sheeps. absorption of volatile fatty acids form the rumen of the sheep. *biochem j*. 66:592-599, 1957.

Benítez, S. (2011). Evaluación nutricional de ensilajes con diferentes niveles de inclusión de cascara de naranja y digestibilidad in vivo como alternativa energética .*revista colombiana de ciencia animal*. bogotá d.c.

Bergner, H., kijora C., Ceresnakova Z., and Szakacs J. 1995. In vitro studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. *arch. tierernahr*. 48:245-256.

Bodarski, R., Wertelecki T., Bommer F., and Gosiewski S. 2005. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding tmr with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. *electronic journal of polish agricultural universities, animal husbandry*, 8:1-9.

Carvalho, E. R., Schmelz-roberts N. S, White H.M., Doane P.N., Donkin S.S. 2011. Replacing corn with glycerol in diets for transition dairy cows. *journal of dairy science*. 94(2): 908–16.

Czerkawski, J. W., and Breckenridge G. 1972. Fermentation of various glycolytic intermediates and other compounds by rumen micro-organisms, with particular reference to methane production. *The British Journal of Nutrition*, 27:131-146.

Cockett, N. E., Berghams S., Beckers M.C., Shay T.L., Jackson S. P., Snowder G. D., and Georges M. 1997. The callipyge gene of sheep. *anim. biotechnol.* 8(1):23. 8.

Cockett, N. E., Jackson S. P., Georges M., Green R. D., and Mendenhall V. T. 1993. Identification of a random genetic marker that is linked to a gene causing muscle hypertrophy in sheep. *j. anim. sci.* 71(suppl. 1):95.

Cockett, N. E., Jackson S. P., Shay T. L., Nielsen D., Moore S.S., Steele M. R., Barendse W., Green R. D., and Georges M. 1994. Chromosomal location of the callipyge gene in sheep (*ovis aries*) using bovine dna markers. *proc. natl. acad. sci.* 91:3109.

Cockett, N.E., Jackson S.P., Shay T. L., Farnir F., Berghmans S., Snowder G.D., Nielsen D. M., and Georges M. 1996. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *science* 273:236.

Freking, B. A., Keele J. W., Beattie W. C., Kappes M. S, Smith T. P. L., Sonstegard T. S., Nielsen M. K, and Leymaster K.A. 1998. Evaluation of the ovine callipyge locus: i. relative chromosomal position and gene activation. *j. anim. sci.* 76:2062.

Cook, R. M. and Miller I. D. Utilization of volatile fatty acids in ruminants. removal of them from portal blood by the liver. *j. dairy sci.* 48: 1339-1345, 1965.

Cori, C. F. and Shine W. M., 1935. The formation of carbohydrate from glycerophosphate in the liver of the rat. *science.* 82, pp. 134–135.

Defrain, J. M., Hippen A. R., Kalscheur K. F., Jardon P. W. 2004. "Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance". *J. Dairy Sci.* 87. 4195–4206.

Donkin, D. (2008). Glicerol procedente de la producción de biodiesel: el nuevo maíz para el ganado. *Revista brasileira de zootecnia.* ed 37.

Gabor M., Trakovicka A., Miluchova M. Analysis of polymorphis of cast gene and clpg gene in sheep by pcr-rflp method. *zootehnie și biotehnologii*, vol. 42 (2) (2009) 470-476.

Garton, G. A., Lough A. K., and Vioque E. 1961. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *J. Gen. Microbiol.* 25:215-225.

Grunau, C., Clark S. J., and Rosenthal A. 2001. Bisulfite genomic sequencing: systematic investigation of critical experimental parameters. *Nucleic Acids Res.* 29: e65.

Johns, A. T. 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New Zealand J. Sci. Technol.* 35:262-269.

Judson, G. J., Anderson E., Luick J. L. and Leng R. A. The contribution of propionate to glucose synthesis in sheep given diets of different grain content. *Brit. J. Nutr.* 22: 69-75, 1968.

Johns, A. T. 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New Zealand J. Sci. Technol.* 35:262-269.

Kijora C., Bergner H., Gotz K. P., Bartelt J., Szakacs J., and Sommer A. 1998. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. *Arch. Tierernähr.* 51:341-348.

Krebs, H. A. Bovine ketosis. *Vet. Rec.* 78: 187-191, 1966.

Kocsisová, T., y Cvengos J. 2006. Fase g a partir de la división y refinación de producción de éster de metilo. petróleo y carbón 48: 1-5.

Jackson, S. P., Miller M. F., and Green R. D. 1997. Phenotypic characterization of rambouillet sheep expressing the callipyge gene. ii. carcass characteristics and retail yield. *J. Anim. Sci.* 75:125.

Lieberman, M. y Marks A. 2013. Basic medical biochemistry. (4<sup>a</sup> ed.). Estados Unidos: Wolter Kluwer.

Lin, E. C. C. 1977. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annu. Rev. Biochem.* 46:765-795. Rémond, B., E. Souday, and J.P. Jouany. 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41:121-132.

López, J., Santos M., Pérez A. y Martín A.. 2009. La digestión anaeróbica de glicerol derivado de la fabricación de biodiesel. *Bioresource Technology* 100: 5609-5615.

Leng, R. A., Steele J. N. and Luick J. R. Contribution of propionate to glucosynthesis in sheep. *Biochem. J.* 103: 785-790, 1967

Luo, N., Fu X., Cao F., Xiao T. and Edwards P. P. 2008. Reforma de fase acuosa de glicerol para generación de hidrógeno sobre catalizador de Pt, efecto de la composición del catalizador y condiciones de reacción. *Combustible* 87: 3483-3489.

Lien, S., Cockett N. E., Klungland H., Arnheim N., Georges M., and Gomez-Raya L. 1999. High-resolution genetic map of the sheep callipyge region: linkage heterogeneity among rams detected by sperm typing. *Anim. Genet.* 30(1):42.

Lorenzen, C. L., Koohmaraie M., Shackelford S. D., Wheeler T. L., Jahoor F., Freetly H. C., Wheeler T. L., Savell J. W, and Fiorotto M. L. 2000. Protein kinetics in callipyge lambs. *J. Anim. Sci.* 78:78.

Musselman, A. F. 2008. efectos de la glicerina cruda sobre las características de rendimiento de la canal y de engorde de corderos para el mercado. tesis de maestría.

Melero, J. A., Vicente G., Paniagua M., Morales G., Muñoz P. 2012. "Etherification of biodiesel-derived glycerol with ethanol for fuel formulation over sulfonic modified catalysts. bioresour. technol. 103: 142–151.

Murphy, S. K., Wylie A. A., Coveler K. J., Cotter P. D., Papenhausen, p.r., sutton, v.r., shaffer, l.g., and jirtle, r.l. 2003. epigenetic detection of human chromosome 14 uniparental disomy. hum. mut. 22: 92–97.

Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W. 2010. Bioquímica de harper. 20<sup>o</sup> edición. editorial mcgraw-hill interamericana.

Pachauri, N. y He B. 2006. Utilización de valor agregado de glicerol crudo de la producción de biodiesel: una encuesta de actividades de investigación actuales. actas de la reunión anual anual de asabe, portland, oregon. 9-12 de julio. sociedad americana de ingenieros agrícolas y biológicos (asabe), st. joseph, missouri, estados unidos.

Pfander, W. H. and Phillipson A. T. The rates of absorption of acetic, propionic and n-butyric acids. j. physiol. 122: 102-109, 1953.

Pérez, M., De ita D. y Díaz-muñoz. 2012. Gluconeogénesis: una nueva visión contemporánea de una vía metabólica antigua. Revista de educación bioquímica. 31(1), 10-20.

Pyatt, N. 2007. efecto de la glicerina cruda en el acabado de las dietas del ganado. j. anim.

Ganbari S., Osfoori R., Eskandarinasab M. P. A. Preliminary study of marker data applicability in gene introgression program for afshari sheep breed. *biotechnology* 6 (4) 2007: 513-519

Ramos, M. H., and Kerley M. S. 2012. Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. *j. anim.sci* 90(3): 892–99.

Rook, J. A. F. and Thomas P. C. The significance of rumen activity. *proc. of the iii nutrition conference of feed manufactures*. 1a edición. j. & a. churchill, ltd.1969.

Rutz, D., Janssen R., Rogat J., Borch k., Mittelbach M., Schober S., Vos J., Thebaud A., Ballesteros M., Manzanares P., James S. T., Coelho C., Guardabassi S. T., Aroca P., Soler G., Riegelhaupt I., Arias E., Masera T., Junquera O., Nadal M., Bravo G. 2010. "Research and technology development cooperation on biofuels between europe and latin america". in: *proceedings of the 18th european biomass conference and exhibition*, 3–7 may 2010, lyon, france, isbn:978-88-89407-56-5. 2177–2187 p.

Steel, J. W. and Leng R. A. Effects of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep. 2. synthesis of glucose from ruminal propionic. *brit. j. nutr.* 30: 475-489, 1973.

Rahmat, N., Abdullah A. Z and Mohamed A. R. 2010. Avances recientes en tecnologías innovadoras y potenciales para la transformación de glicerol en aditivos para combustibles: una revisión crítica. *Revisiones de energía renovable y sostenible* 14: 987-1000.

Schievano, A., D'imporzano G. and Adani F. 2009. Sustituir los cultivos energéticos con desechos orgánicos y residuos agroindustriales para la producción de biogás. *journal of environmental management* 90: 2537-2541.

Schröder, A., Südekum K. H. 1999. "Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants". in: wratten, n., salisbury, p.a. (eds.), new horizons for an old crop. proc. 10th int. rapeseed congr., canberra, australia. paper no. 241. the regional institute ltd., gosford, new south wales, australia.

Suppes, G. J. 2006. Propilenglicol de base biológica y monómeros de glicerina natural. epa. disponible en <http://epa.gov/greenchemistry/pubs/pgcc/winners/aa06.html> (consultado el 23 de marzo de 2011).

Stockdale, F. E. 1992. Myogenic cell lineage's. dev. biol. 154:284. webb, a. j., and s. d. simpson. 1986. performance of british landrace pigs selected for high and low incidence of halothane sensitivity.ii. growth and carcass traits. anim. prod. 43:492.

Trabue, S. 2007. Fermentación ruminal de propilenglicol y glicerol. journal of agricultural and food

Thompson, J. C. and He B. B. 2006. Caracterización de glicerol crudo a partir de la producción de biodiesel a partir de múltiples materias primas. ingeniería aplicada en agricultura 22: 261-265.

Terré M., Casado P. B. A. 2013. No title no title. aida. xii jornadas sobre producción animal, 1, 355–357. <http://doi.org/10.1017/cbo9781107415324.004>

Tonetto, C. J., Cassol C., Müller I, Gomes M., Da rocha J. H. Souza D. A., Ramos C. and Peres N. D. 2004. Ganho de peso e características da carcaça de cordeiros terminados em pastagem natural suplementada, pasragem cultivada de azevérm (lolium multiflorum lam.) e confinamento. r. bras. zootec. vol 33 nº1.

Tomei, J., Upham P. 2009. "Argentinean soy-based biodiesel: an introduction to production and impacts". energy policy 37 (10), 3890–3898.

Yang, F., Milford A. H. and Runcang S. 2012. "Value-added uses for crude glycerol—a byproduct of biodiesel production". *biotechnology for biofuels*: 5: 1-10.

Yañez, E. E., Silva E. E., Da costa R.E , Torres E. A. 2009. "The energy balance in the palm oil-derived methyl ester (pme) life cycle for the cases in brazil and colombia". *renewable energy* 34: 2905–2913.

## ANEXOS

### A) Parámetros individuales de 15 días de ovinos

TRAT	REP	PESOi	GDP	CMS	CA	PESO GANADO	COSUMO 15 DÍAS
1	1	21.30	0.300	1.240	4.1	4.500	18.595
1	2	22.00	0.227	1.180	5.2	3.400	17.700
1	3	27.00	0.380	1.199	3.2	5.700	17.980
1	4	25.70	0.227	1.168	5.2	3.400	17.515
1	5	23.50	0.307	1.289	4.2	4.600	19.340
1	6	24.00	0.287	1.214	4.2	4.300	18.205
1	7	21.00	0.313	1.063	3.4	4.700	15.950
1	8	27.90	0.273	1.283	4.7	4.100	19.240
1	9	24.20	0.293	1.349	4.6	4.400	20.240
1	10	24.00	0.253	1.203	4.7	3.800	18.045
2	1	23.60	0.393	1.268	3.2	5.900	19.015
2	2	21.10	0.347	1.102	3.2	5.200	16.525
2	3	21.50	0.380	1.223	3.2	5.700	18.340
2	4	22.30	0.247	1.145	4.6	3.700	17.175
2	5	24.80	0.347	1.292	3.7	5.200	19.375
2	6	26.40	0.253	0.947	3.7	3.800	14.208
2	7	26.60	0.367	1.279	3.5	5.500	19.190
2	8	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000
2	9	21.10	0.293	1.076	3.7	4.400	16.140
2	10	26.65	0.377	1.253	3.3	5.650	18.790
3	1	24.40	0.360	1.271	3.5	5.400	19.060
3	2	24.75	0.310	1.173	3.8	4.650	17.598
3	3	25.70	0.307	1.292	4.2	4.600	19.380
3	4	26.10	0.260	1.202	4.6	3.900	18.025
3	5	23.90	0.327	1.269	3.9	4.900	19.040
3	6	20.70	0.273	1.300	4.8	4.100	19.500
3	7	29.60	0.247	1.288	5.2	3.700	19.324
3	8	19.60	0.187	0.870	4.7	2.800	13.045
3	9	24.20	0.280	1.286	4.6	4.200	19.295
3	10	27.00	0.287	1.291	4.5	4.300	19.365
4	1	24.60	0.333	1.294	3.9	5.000	19.405
4	2	19.40	0.180	0.742	4.1	2.700	11.125
4	3	21.00	0.193	0.953	4.9	2.900	14.295
4	4	23.45	0.197	0.903	4.6	2.950	13.545
4	5	26.00	0.167	1.031	6.2	2.500	15.460
4	6	28.75	0.290	1.274	4.4	4.350	19.115

4	7	23.00	0.247	1.015	4.1	3.700	15.230
4	8	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000
4	9	24.00	0.227	1.175	5.2	3.400	17.630
4	10	25.25	0.290	1.286	4.4	4.350	19.285

B) Parámetros individuales de 30 días de ovinos

TRAT	PESO1	GDP	CMS	CA	PESO GANADO	COSUMO 30 DÍAS
1	25.80	0.260	1.439	5.5	3.900	21.580
1	25.40	0.373	1.470	3.9	5.600	22.050
1	32.70	0.353	1.372	3.9	5.300	20.580
1	29.10	0.420	1.435	3.4	6.300	21.520
1	28.10	0.327	1.146	3.5	4.900	17.185
1	28.30	0.420	1.507	3.6	6.300	22.610
1	25.70	0.193	1.020	5.3	2.900	15.300
1	32.00	0.417	1.527	3.7	6.250	22.905
1	28.60	0.413	1.501	3.6	6.200	22.510
1	27.80	0.273	1.297	4.7	4.100	19.455
2	29.50	0.340	1.502	4.4	5.100	22.530
2	26.30	0.267	1.333	5.0	4.000	20.000
2	27.20	0.360	1.466	4.1	5.400	21.989
2	26.00	0.327	1.175	3.6	4.900	17.630
2	30.00	0.400	1.543	3.9	6.000	23.150
2	30.20	0.323	1.298	4.0	4.850	19.470
2	32.10	0.407	1.472	3.6	6.100	22.085
2	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000
2	25.50	0.387	1.227	3.2	5.800	18.410
2	32.30	0.247	1.360	5.5	3.700	20.405
3	29.8	-0.193	0.486	-2.5	-2.900	7.295
3	29.4	0.353	1.409	4.0	5.300	21.135
3	30.3	0.440	1.541	3.5	6.600	23.110
3	30.0	0.327	1.517	4.6	4.900	22.760
3	28.8	0.383	1.413	3.7	5.750	21.190
3	24.8	0.240	1.223	5.1	3.600	18.340
3	33.3	0.417	1.447	3.5	6.250	21.710
3	22.4	0.313	1.068	3.4	4.700	16.020
3	28.4	0.470	1.478	3.1	7.050	22.175
3	31.3	0.413	1.534	3.7	6.200	23.010
4	29.60	0.253	1.270	5.0	3.800	19.055
4	22.10	0.313	1.251	4.0	4.700	18.760

4	23.90	0.280	1.310	4.7	4.200	19.650
4	26.40	0.373	1.203	3.2	5.600	18.045
4	28.50	-0.067	0.512	-7.7	-1.000	7.685
4	33.10	0.253	1.272	5.0	3.800	19.075
4	26.70	0.290	1.300	4.5	4.350	19.495
4	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000
4	27.40	0.437	1.412	3.2	6.550	21.175
4	29.60	0.347	1.361	3.9	5.200	20.420

C) Parámetros individuales de 45 días de ovinos

TRAT	REP	PESO2	GDP	CMS	CA	PESO GANADO	COSUMO 45 DÍAS
1	1	29.70	0.327	1.630	5.0	4.900	24.450
1	2	31.00	0.367	1.655	4.5	5.500	24.830
1	3	38.00	0.340	1.649	4.9	5.100	24.740
1	4	35.40	0.227	1.614	7.1	3.400	24.210
1	5	33.00	0.340	1.727	5.1	5.100	25.905
1	6	34.60	0.287	1.744	6.1	4.300	26.160
1	7	28.60	0.280	1.485	5.3	4.200	22.275
1	8	38.25	0.343	1.779	5.2	5.150	26.690
1	9	34.80	0.373	1.794	4.8	5.600	26.910
1	10	31.90	0.247	1.587	6.4	3.700	23.805
2	1	34.60	0.433	1.677	3.9	6.500	25.155
2	2	30.30	0.387	1.655	4.3	5.800	24.830
2	3	32.60	0.400	1.779	4.4	6.000	26.680
2	4	30.90	0.293	1.667	5.7	4.400	25.010
2	5	36.00	0.360	1.794	5.0	5.400	26.915
2	6	35.05	0.250	1.540	6.2	3.750	23.105
2	7	38.20	0.307	1.780	5.8	4.600	26.705
2	8	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000
2	9	31.30	0.473	1.631	3.4	7.100	24.465
2	10	36.00	0.273	1.646	6.0	4.100	24.690
3	1	26.90	0.313	1.477	4.7	4.700	22.150
3	2	34.70	0.293	1.707	5.8	4.400	25.605
3	3	36.90	0.313	1.774	5.7	4.700	26.615
3	4	34.90	0.320	1.756	5.5	4.800	26.340
3	5	34.55	0.330	1.749	5.3	4.950	26.240
3	6	28.40	-0.340	0.765	-2.2	-5.100	11.470
3	7	39.55	0.403	1.798	4.5	6.050	26.965
3	8	27.10	0.273	1.526	5.6	4.100	22.895
3	9	35.45	0.283	1.739	6.1	4.250	26.090

3	10	37.50	0.387	1.725	4.5	5.800	25.870
4	1	33.40	0.420	1.791	4.3	6.300	26.870
4	2	26.80	0.333	1.858	5.6	5.000	27.870
4	3	28.10	0.353	1.925	5.4	5.300	28.870
4	4	32.00	0.420	1.991	4.7	6.300	29.870
4	5	27.50	0.367	2.058	5.6	5.500	30.870
4	6	36.90	0.353	2.125	6.0	5.300	31.870
4	7	31.05	0.317	2.191	6.9	4.750	32.870
4	8	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000
4	9	33.95	0.417	2.258	5.4	6.250	33.870
4	10	34.80	0.400	2.325	5.8	6.000	34.870

D) Parámetros individuales de 60 días de ovinos

TRAT	REP	PESO3	GDP	CMS	CA	PESO GANADO	COSUMO 60 DÍAS	PESOf
1	1	34.60	0.393	2.119	5.4	5.900	31.780	40.50
1	2	36.50	0.487	2.007	4.1	7.300	30.110	43.80
1	3	43.10	0.487	2.072	4.3	7.300	31.075	50.40
1	4	38.80	0.460	1.911	4.2	6.900	28.670	45.70
1	5	38.10	0.493	2.098	4.3	7.400	31.470	45.50
1	6	38.90	0.687	2.052	3.0	10.300	30.785	49.20
1	7	32.80	0.460	1.717	3.7	6.900	25.760	39.70
1	8	43.40	0.567	2.130	3.8	8.500	31.950	51.90
1	9	40.40	0.593	2.219	3.7	8.900	33.290	49.30
1	10	35.60	0.593	1.877	3.2	8.900	28.150	44.50
2	1	41.10	0.493	2.192	4.4	7.400	32.880	48.50
2	2	36.10	0.553	1.903	3.4	8.300	28.550	44.40
2	3	38.60	0.527	2.155	4.1	7.900	32.319	46.50
2	4	35.30	0.560	1.985	3.5	8.400	29.780	43.70
2	5	41.40	0.540	2.172	4.0	8.100	32.575	49.50
2	6	38.80	0.500	1.991	4.0	7.500	29.865	46.30
2	7	42.80	0.447	2.078	4.7	6.700	31.170	49.50
2	8	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000	0.00
2	9	38.40	0.593	2.105	3.5	8.900	31.570	47.30
2	10	40.10	0.520	1.933	3.7	7.800	28.990	47.90
3	1	31.60	0.527	1.854	3.5	7.900	27.805	39.50
3	2	39.10	0.407	1.975	4.9	6.100	29.625	45.20
3	3	41.60	0.520	2.198	4.2	7.800	32.975	49.40
3	4	39.70	0.653	2.172	3.3	9.800	32.575	49.50
3	5	39.50	0.507	1.963	3.9	7.600	29.440	47.10
3	6	23.30	0.340	1.098	3.2	5.100	16.465	28.40

3	7	45.60	0.553	2.244	4.1	8.300	33.660	53.90
3	8	31.20	0.400	1.817	4.5	6.000	27.250	37.20
3	9	39.70	0.567	2.086	3.7	8.500	31.295	48.20
3	10	43.30	0.427	1.941	4.5	6.400	29.110	49.70
4	1	39.70	0.593	2.254	3.8	8.900	33.805	48.60
4	2	31.80	0.393	1.616	4.1	5.900	24.245	37.70
4	3	33.40	0.307	1.113	3.6	4.600	16.690	38.00
4	4	38.30	0.380	1.605	4.2	5.700	24.070	44.00
4	5	33.00	0.440	1.535	3.5	6.600	23.030	39.60
4	6	42.20	0.540	1.849	3.4	8.100	27.740	50.30
4	7	35.80	0.333	1.691	5.1	5.000	25.365	40.80
4	8	0.00	0.000	0.000	0.0	0.000	0.000	0.00
4	9	40.20	0.513	2.105	4.1	7.700	31.580	47.90
4	10	40.80	0.533	1.939	3.6	8.000	29.090	48.80

#### E) Resultados del nanodrop para determinar la calidad del ADN.

Sample ID	User name	Date and Time	Nucleic Acid Conc.	Unit	A260	A280	260/280	260/230	Sample Type	Factor
	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:15:11 p.m.	-0.1	ng/μl	-0.001	-0.005	0.3	0.2	DNA	50
A1	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:16:30 p.m.	128	ng/μl	2.56	1.422	1.8	1.86	DNA	50
A2	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:17:04 p.m.	99.1	ng/μl	1.983	1.125	1.76	1.26	DNA	50
A3	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:17:26 p.m.	85	ng/μl	1.699	0.911	1.87	1.79	DNA	50
A4	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:17:49 p.m.	78.2	ng/μl	1.565	0.862	1.82	2.24	DNA	50
A5	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:18:15 p.m.	87.3	ng/μl	1.745	0.978	1.79	1.78	DNA	50
A6	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:18:32 p.m.	70.2	ng/μl	1.403	0.76	1.85	2.23	DNA	50
A7	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:18:47 p.m.	87.3	ng/μl	1.747	0.994	1.76	1.36	DNA	50
A8	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:19:03 p.m.	80.5	ng/μl	1.609	0.861	1.87	1.23	DNA	50
A9	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:19:22 p.m.	88.6	ng/μl	1.773	1.007	1.76	1.66	DNA	50
A10	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:19:38 p.m.	73.8	ng/μl	1.476	0.864	1.71	1.39	DNA	50
B1	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:19:59 p.m.	53.5	ng/μl	1.07	0.6	1.78	1.82	DNA	50
B2	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:20:18 p.m.	85.2	ng/μl	1.704	0.947	1.8	1.48	DNA	50
B3	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:20:38 p.m.	77	ng/μl	1.54	0.873	1.76	1.5	DNA	50
B4	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:20:52 p.m.	73.9	ng/μl	1.479	0.828	1.79	1.59	DNA	50
B5	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:21:09 p.m.	83.2	ng/μl	1.664	0.939	1.77	1.87	DNA	50
B6	Lab. Huella Genética	23/05/2017 02:21:23 p.m.	87.6	ng/μl	1.752	0.986	1.78	1.36	DNA	50

B7	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:21:39 p.m.	75.7	ng/μl	1.514	0.875	1.73	1.37	DNA	50
B8	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:21:55 p.m.	66.3	ng/μl	1.325	0.758	1.75	1	DNA	50
B9	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:22:17 p.m.	85.3	ng/μl	1.707	0.959	1.78	2.06	DNA	50
C1	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:22:32 p.m.	137.4	ng/μl	2.747	1.974	1.39	0.98	DNA	50
C2	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:23:32 p.m.	87.5	ng/μl	1.749	0.967	1.81	1.82	DNA	50
C3	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:23:51 p.m.	91.1	ng/μl	1.823	1.029	1.77	1.57	DNA	50
C4	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:24:06 p.m.	81.5	ng/μl	1.63	0.922	1.77	1.01	DNA	50
C5	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:24:32 p.m.	87.2	ng/μl	1.744	1.073	1.63	0.75	DNA	50
C6	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:24:55 p.m.	49.2	ng/μl	0.984	0.576	1.71	1.48	DNA	50
C7	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:25:15 p.m.	51.4	ng/μl	1.028	0.59	1.74	1.36	DNA	50
C8	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:25:47 p.m.	87.8	ng/μl	1.755	1.041	1.69	1.03	DNA	50
C9	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:26:08 p.m.	61.7	ng/μl	1.233	0.715	1.72	1.32	DNA	50
D1	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:26:24 p.m.	93.9	ng/μl	1.878	1.053	1.78	1.72	DNA	50
D2	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:26:46 p.m.	78.1	ng/μl	1.561	0.889	1.76	1.28	DNA	50
D3	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:27:03 p.m.	63.4	ng/μl	1.269	0.729	1.74	1.81	DNA	50
D4	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:27:21 p.m.	79.1	ng/μl	1.582	0.888	1.78	1.48	DNA	50
D5	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:27:40 p.m.	31	ng/μl	0.619	0.345	1.79	1.72	DNA	50
D6	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:27:57 p.m.	48.4	ng/μl	0.969	0.563	1.72	1.64	DNA	50
D7	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:28:14 p.m.	95.3	ng/μl	1.906	1.001	1.9	1.65	DNA	50
D8	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:28:28 p.m.	113.3	ng/μl	2.267	1.282	1.77	1.82	DNA	50
D9	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:28:42 p.m.	85.3	ng/μl	1.705	0.979	1.74	1.41	DNA	50
D10	Lab. Genética	Huella	23/05/2017 02:28:57 p.m.	96.3	ng/μl	1.925	1.066	1.81	1.91	DNA	50

F) Diluciones del ADN

Sample ID	Nucleic Acid Conc.	260/280	ADN	AGUA
1	45.3	1.89	22.1	27.9
2	55.4	2	18.1	31.9
3	60.7	1.86	16.5	33.5
4	52.4	1.79	19.1	30.9
A1	128	1.8	7.8	42.2
A2	99.1	1.76	10.1	39.9
A3	85	1.87	11.8	38.2
A4	78.2	1.82	12.8	37.2
A5	87.3	1.79	11.5	38.5
A6	70.2	1.85	14.2	35.8
A7	87.3	1.76	11.5	38.5
A8	80.5	1.87	12.4	37.6
A9	88.6	1.76	11.3	38.7
A10	73.8	1.71	13.6	36.4
B1	53.5	1.78	18.7	31.3
B2	85.2	1.8	11.7	38.3
B3	77	1.76	13.0	37.0
B4	73.9	1.79	13.5	36.5
B5	83.2	1.77	12.0	38.0
B6	87.6	1.78	11.4	38.6
B7	75.7	1.73	13.2	36.8
B8	66.3	1.75	15.1	34.9
B9	85.3	1.78	11.7	38.3
C1	137.4	1.39	7.3	42.7
C2	87.5	1.81	11.4	38.6
C3	91.1	1.77	11.0	39.0
C4	81.5	1.77	12.3	37.7
C5	87.2	1.63	11.5	38.5
C6	49.2	1.71	20.3	29.7
C7	51.4	1.74	19.5	30.5
C8	87.8	1.69	11.4	38.6
C9	61.7	1.72	16.2	33.8
D1	93.9	1.78	10.6	39.4
D2	78.1	1.76	12.8	37.2
D3	63.4	1.74	15.8	34.2
D4	79.1	1.78	12.6	37.4
D5	31	1.79	32.3	17.7
D6	48.4	1.72	20.7	29.3
D7	95.3	1.9	10.5	39.5
D8	113.3	1.77	8.8	41.2

D9	85.3	1.74	11.7	38.3
D10	96.3	1.81	10.4	39.6

G) Diluciones del primer

Primer		C1 pmol/ul	C2 pmol/ul	V2 ul	V1 ul	AGUA
1	F	192.00	10	60	3.1	56.9
	R	169.00	10	60	3.6	56.4

H) Volumens para preparar la Master MIX

MASTER MIX (Promega)

	[Inicial]	unidad	[Final]	unidad	1Rx(μL)	Rx
Agua					14.1	43
Buffer	5	x	1	x	5	606.3
MgCl <sub>2</sub>	25	mM	1.5	mM	2	215
dNTPs	10	mM	0.2	mM	0.5	86
Primer F	10	pmol/μL	10	pmol	0.5	21.5
Primer R	10	pmol/μL	10	pmol	0.5	21.5
Tap Pol	5	U/μL	1	U	0.4	17.2
ADN	20	ng/μL	40	ng	2	86