

Asociación de dos marcadores del gen de la calpastatina con variables productivas de novillos Brangus engordados en pasturas

Association of two markers on the calpastatin gene with productive traits of grazing Brangus steers

Motter¹, M.M., Corva², P.M., Marrube¹, G., Miquel³, M.C., Papaleo Mazzuco³, J., Villarreal³, E.L., Melucci^{2,3}, M.L., Mezzadra³, C.A., Schor⁴, A. y Soria¹, L.A.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Balcarce
Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires

Resumen

La calpastatina es el inhibidor de las calpaínas, las enzimas que integran uno de los sistemas proteolíticos del músculo esquelético. Este sistema está involucrado en la renovación constante de las proteínas musculares en el animal vivo y también es responsable del proceso de proteólisis *postmortem* de la carne, de cuya magnitud depende la terneza de la misma. Se han identificado dos mutaciones (CAST-T1 y UoG - CAST) en el gen que codifica dicha enzima (CAST), las cuales se han evaluado como potenciales predictores de la terneza. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dichos marcadores sobre peso vivo final (PV), espesor de grasa dorsal medido en el animal vivo (EGDU) y en la res (EGD), área de ojo de bife (AOBU y AOB), peso de grasa de riñonada (GR), porcentaje de grasa de riñonada (PGR), grasa intramuscular (GI), terneza (RC) y color de la carne en novillos Brangus (n=247) engordados en pasturas polifíticas. Para ambos marcadores, el alelo menos frecuente fue G (0,17 en CAST-T1 y 0,39 en UoG-CAST). Sólo se detectó como significativa la asociación de UoG-CAST con GR y PGR, donde el genotipo GG presentó valores significativamente superiores que CC y CG. Las medias de RC de cada genotipo para cada marcador mostraron la tendencia esperada, pero las diferencias entre genotipos no fueron significativas.

Palabras clave: bovinos para carne, calpastatina, marcador molecular.

Summary

In skeletal muscle the calpain system consists of three calcium-activated-protease isoforms m-calpain, μ -calpain and calpain 3 or p94. The calpastatin is the calpain-specific endogenous

Recibido: febrero de 2013

Aceptado: octubre de 2013

1. Cátedra de Genética. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Av Chorroarín 280 (1427) CABA. Isoria@fvvet.uba.ar

2. Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. C.C. 276 (7620) Balcarce

3. Área de Investigación en Producción Animal, INTA EEA. C.C. 276 (7620) Balcarce

4. Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 (1417) CABA

inhibitor. This system is involved in the remodeling of muscle protein in the living animal and it is widely accepted that the proteolytic activity of calpain system contributes to the meat tenderization. Two mutations in the calpastatin gene (CAST-T1 and UoG - CAST), have been associated with differences in tenderness. The objective this study was to assess the effect of these markers on final live weight, backfat thickness, rib-eye area, kidney fat weight, kidney fat percentage, intramuscular fat, tenderness (WBSF) and meat color in Brangus steers (n=247) finished on pastures. Minor allele frequency for both markers was G (0.17 in CAST-T1 and 0.39 in UoG-CAST). Significant association was found of UoG-CAST marker with kidney fat weight and kidney fat percentage, where GG genotype showed significantly higher values than CC and CG. According to previous results, the WBSF least square means of each genotype for each marker showed the expected trend, but differences between genotypes were not significant.

Key words: beef cattle, calpastatin, molecular marker.

Introducción

El sistema de las calpaínas en el músculo esquelético está conformado por proteasas activadas por Ca^{2+} (m-calpaína, μ -calpaína, calpaína 3 o p94 y calpain 4 o 28kDa) y su inhibidor endógeno, la calpastatina con sus cuatro isoformas generadas por promotores múltiples y *splicing* alternativo (Goll et al, 2003; Wendt et al, 2004; Raynaud et al, 2005; Muroya et al, 2012). Este sistema es considerado el principal responsable de la variabilidad en la tiernización *postmortem* de la carne (Koochmaraie, 1994). Existe relación entre la actividad de calpastatina en el músculo a las 24 hs *postmortem* y la terneza de la carne medida por cizalla de Warner Bratzler, y la correlación genética de ambas variables es cercana a 0,50 (Shackelford et al, 1994). Este sistema también está involucrado en la renovación (*turnover*) de las proteínas del músculo esquelético en el animal vivo, de modo tal que modificaciones en la tasa de dicho proceso podrían tener efecto en la tasa de crecimiento muscular (Goll et al, 2008). Debido al potencial que esto tiene para los programas de mejoramiento genético asistido por marcadores, una serie de grupos de investigación han identificado y evaluado polimorfismos en los genes de dicho sistema proteolítico. En el caso del gen de la calpastatina (CAST) se han hallado dos SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) asociados con la variabilidad en

terneza. El marcador comúnmente designado como CAST-T1, o también CAST2959, es una sustitución G/A localizada en la región 3' no traducida (Barendse, 2002), mientras que el marcador conocido como UoG -CAST es un SNP G/C en el intrón 5 de dicho gen (Schenkel et al, 2006), hallando al alelo A en CAST-T1 y al C en UoG-CAST, como favorables para la terneza (revisado por Motter et al, 2009). Estos marcadores han sido incluidos en tests comerciales y validados por diferentes grupos de investigación del mundo en distintas razas y cruza bovina (revisado por Motter et al, 2009). Es de destacar que recientemente los genotipos de estos dos marcadores han sido incluidos en el Resumen de Padres Angus de Argentina (http://www.angus.org.ar/index.php?page=era_padres) junto con dos marcadores del gen de la subunidad mayor de la μ -calpaína o CAPN1 (IPCVA, 2011).

En el marco de un proyecto de largo plazo destinado a la evaluación genómica de la raza Brangus, de gran relevancia en la ganadería argentina (Corva et al, 2009, Soria et al, 2009, Papaleo Mazzuco et al, 2010, Baeza et al, 2011, Baeza et al, 2012), el objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de CAST-T1 y UoG -CAST en novillos engordados sobre pasturas, tanto en variables de calidad de carne como en atributos de la res.

Materiales y Métodos

Animales

Una descripción más detallada del manejo de los animales utilizados en este estudio puede encontrarse en Papaleo Mazzucco et al (2010). Brevemente, se utilizaron 247 novillos de la raza Brangus provenientes, de 9 establecimientos localizados en el centro y norte del país. La información sobre paternidad no estaba disponible para todos los animales. El período de engorde se realizó en dos ciclos (años) consecutivos, en dos establecimientos localizados en la provincia de Buenos Aires, y a partir de los 8 a 10 meses de edad aproximadamente. En el primer ciclo se engordaron 60 terneros de tres orígenes distintos (20 de cada uno), entre abril de 2004 y junio de 2005, en la Estación Experimental Balcarce del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), sobre pasturas a base de *Lolium multiflorum*, *Dactylis glomerata*, *Bromus catharticus*, *Trifolium repens* y *T. pratense*. El segundo ciclo incluyó 187 terneros proporcionados por seis establecimientos (10 a 48 animales de cada uno) y se realizó entre mayo de 2005 y julio de 2006 en un campo experimental de la Universidad de Buenos Aires ubicado en el partido de Carlos Casares, Prov. Bs. As. sobre pasturas compuestas por *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*, *Bromus catharticus*, *Dactylis glomerata* y *Phalaris bulbosa*. Los pesos corporales iniciales fueron similares entre los dos ciclos (226 ± 27 kg y 231 ± 33 kg, respectivamente). La ganancia diaria de peso fue $0,689 \pm 0,015$ kg/día para el primer ciclo y $0,541 \pm 0,070$ kg/día para el segundo. Al momento de la faena el peso vivo (PV) promedio fue 414 ± 5 kg y 457 ± 3 kg con un espesor de grasa dorsal por ultrasonografía (EGDU) de $6,01 \pm 0,15$ mm y $6,79 \pm 0,12$ para los ciclos 1 y 2 respectivamente.

Información fenotípica

Mensualmente se registró el peso del animal, EGDU y el área de ojo de bife (AOBU) por ultrasonografía (Papaleo Mazzucco et al, 2010). Los novillos se sacrificaron en un

frigorífico comercial, cuando alcanzaron un mínimo de EGDU de 6 mm medido entre la 12° y 13° costillas. Al momento de la faena se registró en el frigorífico el PV, el peso de la grasa de riñonada, el área de ojo de bife (AOB) y el espesor de grasa dorsal (EGD). El peso de la grasa perirrenal se expresó como valor absoluto (GR) y también como porcentaje de peso de la canal caliente (PGR). Después de 24 h de oreo a una temperatura entre 1-5 °C, se removió un *block* de bifes correspondiente a la 11° a 13° costillas de la media canal izquierda, en ese momento se midió el EGD de la res con un calibre y el AOB por calcado en acetato y luego estimada por planimetría. El *block* fue deshuesado y dividido en tres porciones que se envasaron al vacío y se asignaron respectivamente a tres tratamientos de maduración (1, 7 y 14 días) a 5 °C. Cumplido el plazo de maduración, los cortes se conservaron a -18 °C hasta su envío al laboratorio de carnes en la Universidad de Buenos Aires, donde se realizaron determinaciones analíticas de calidad. La terneza se determinó como Resistencia al Corte (RC, kg) sobre muestras de carne cocidas en baño de agua a 70°C durante 50 minutos y enfriadas bajo agua corriente durante 40 minutos, utilizando una cuchilla de Warner-Bratzler montada sobre un equipo Instron 4442 Universal Testing Machine (Canton, MA, USA), equipada con una celda de 50 kg de carga. La grasa intramuscular (GIM) se extrajo de acuerdo al protocolo 920.39 AOAC (1992) y se expresó como g/100 g de tejido fresco. El color de la carne se evaluó sobre cortes de 2,5 cm de espesor, se realizaron tres lecturas después de una hora de oxigenación a unos 4° C (*blooming time*). Las medidas absolutas del color se registraron en el sistema L* a* y b* (L*: luminosidad, a*: índice rojo y b*: índice amarillo, CIE, 1976) usando un colorímetro portátil Minolta serie CR-300 (Minolta Co, Ltd. Japón). Mayores valores de a* indican mayor predominancia de rojo sobre verde y mayores valores b* indican mayor predominancia de amarillo sobre azul (Wulf y Page, 2000).

Información molecular

A partir de 500 µl de sangre, se aisló el ADN por extracción con fenol/ cloroformo y precipitación con etanol (Sambrook et al, 1989). Para determinar los genotipos de los SNPs CAST-T1 (posición 2959 de la secuencia AF159246, Barendse, 2002) y UoG CAST (nucleótido 282 de la secuencia AY008267, Schenkel et al, 2006) se diseñaron métodos de PCR-RFLP. En el caso del SNP CAST-T1, se amplificó un fragmento de 501 pb con los *primers* GCACATTCTCCCACAGTGCC (*forward*) y GCGGCTGCTCGGTTTCACAGA (*reverse*), que luego fue digerido con la enzima *Ddel*. Para UoG-CAST se amplificó un fragmento de 484 pb con los *primers* CCCAAGAAGTAAAGCCAAAGGA (*forward*) y CTTAGGAGCATGATTGCTTCC (*reverse*), que luego fue digerido con la enzima *Rsa*1. Se utilizó un protocolo de PCR-RFLP adaptado con temperaturas de alineamiento de *primers* de 64 °C y 57 °C para CAST-1 y UoG-CAST, respectivamente (Corva et al, 2007). Los polimorfismos se visualizaron en geles de agarosa al 1,6% teñidos con Bromuro de Etidio. Se estimaron frecuencias alélicas y genotípicas y las desviaciones de Equilibrio de Hardy-Weinberg fueron testeadas con SAS (versión 9.2).

Análisis estadístico

La asociación de cada SNP con las variables productivas se evaluó con el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + G(C)_j + C_k + A_i + e_{ijkl}$$

donde y_{ijkl} es la l^{th} observación de un atributo determinado; μ en la media general; M_i es el efecto fijo del i^{th} genotipo de un SNP individual ($i = AA, AG, GG$ para CAST-T1; $i = CC, CG$ y GG para UoG-CAST); $G(C)_j$ es el efecto fijo de grupo j de contemporáneos anidado dentro del ciclo de engorde ($j = 1, \dots, 23$); C_k es el efecto fijo del ciclo de engorde k (año, $k = 1, 2$), A_i es

el efecto aleatorio del animal ($i =$ genotipo de cada SNP) y e_{ijkl} es el error aleatorio. Un grupo contemporáneo se definió como un grupo de animales con el mismo origen y fecha de faena. El efecto de padre estuvo confundido con el grupo contemporáneo. En análisis preliminares se analizaron interacciones entre marcadores y efectos fijos pero como no fueron significativas se eliminaron en el modelo final. La comparación de mínimos cuadrados se realizó mediante Test de Tukey. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado como representante de diferencias significativas. Se utilizó el procedimiento Mixed de SAS (SAS, 1998).

Resultados y Discusión

Información fenotípica

Las medias y desvíos estándar de los datos fenotípicos obtenidos se resumen en los Cuadros 1 y 2.

Papaleo Mazzucco et al, 2010, publicaron los promedios de mínimos cuadrados para las variables indicadas en el Cuadro 2 donde discuten el efecto del período de maduración sobre las mismas.

Frecuencias genotípicas y alélicas

Las frecuencias genotípicas, el alelo menos frecuente (MAF) y el test para determinar Equilibrio de Hardy-Weinberg de los marcadores CAST-T1 y UoG-CAST se resumen en el Cuadro 3. Ambos marcadores fueron polimórficos en la población Brangus analizada y el alelo menos frecuente (MAF), en ambos casos, fue el informado desfavorable para la ternera por varios autores (revisado por Motter et al, 2009). Las frecuencias genotípicas del marcador CAST-T1 estuvieron en equilibrio de HW ($p < 0,99$) pero no las del marcador UoG-CAST ($p < 0,002$), para el cual hubo un exceso de heterocigotas en detrimento de las clases homocigotas.

Cuadro 1: Número de registros, medias y desvíos estándar de variables de res.

Table 1: Number of records, means and standard deviations for carcass and meat quality traits.

Variable ¹	n	Media	DE
PV (kg)	247	447,54	48,45
EGDU (mm)	245	6,55	1,59
AOBU (cm ²)	246	67,07	8,70
GR (kg)	247	3,15	1,22
PGR (%)	247	1,24	0,41
EGD (mm)	247	3,31	0,30
AOB (cm ²)	246	58,30	8,78
GIM (%)	244	2,50	0,95

¹PV = peso vivo final, EGDU = espesor de grasa dorsal por ultrasonido, AOBU = área de ojo de bife por ultrasonido, GR = peso de grasa de riñonada, PGR = porcentaje de grasa de riñonada, EGD = espesor de grasa dorsal, AOB = área de ojo de bife, GIM = grasa intramuscular

Cuadro 2: Número de registros, medias y desvíos estándar de resistencia al corte (RC) y color (L*, a* y b*) de acuerdo al tiempo de maduración.

Table 2: Number of records, means and standard deviations for Warner-Bratzler shear force (WBSF) and colour (L*, a* and b*) for each aging period.

Variable ¹	1 día		7 días		14 días	
	n	Media ± DE	n	Media ± DE	n	Media ± DE
RC (kg)	247	7,78 ± 1,56	246	7,00 ± 1,36	246	6,97 ± 1,35
L*	246	37,62 ± 2,14	247	38,68 ± 2,26	246	40,09 ± 2,05
a*	246	20,87 ± 2,41	247	22,20 ± 3,06	246	23,26 ± 2,03
b*	246	11,72 ± 1,30	247	12,55 ± 1,73	246	12,98 ± 1,34

¹ Coordenadas de color: L* = luminosidad, a* = eje rojo-verde, b* = eje amarillo-azul.

Cuadro 3: Frecuencia genotípica (número de alelos favorables), alelo menos frecuente (MAF) y tests de desviación de Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) de los marcadores CAST-T1 y UoG-CAST.

Table 3: Genotypic frequency (number of favorable alleles), minor allele frequency (MAF) and tests for Hardy-Weinberg equilibrium for CAST-T1 y UoG-CAST markers.

Marcador	Alelo favorable ¹	n	Genotipos (%)			MAF	HWE
			0	1	2		
CAST-T1	A	247	2,8	29,2	68,0	G = 0,17	0,99
UoG-CAST	C	247	10,5	57,1	32,4	G = 0,39	0,002

¹ Para la terneza de la carne de acuerdo a la bibliografía (revisado por Motter et al, 2009).

La frecuencia observada del alelo A del marcador CAST-T1 fue 0,83, coincidentemente es el mismo valor hallado por Casas et al (2006) en cruza indicas (n=580). Los resultados de la bibliografía internacional sugieren que este alelo es más frecuente en razas *Bos Taurus* (0,80 a 0,94) que en Brahman (0,66) (Casas et al, 2006, Morris et al, 2006, Curi et al, 2009). En Argentina se obtuvo una frecuencia de 0,92 en 306 reproductores de la raza Angus (IPCVA, 2011). Por su parte en el marcador UoG-CAST, se observó una frecuencia para el alelo C de 0,61, este valor es inferior al obtenido por Van Eenennaam et al (2007), donde la frecuencia observada en Brangus (n=203) fue 0,79, al realizar la validación de dos test comerciales para terneza en distintas poblaciones de bovinos de carne (n=1.302) del NBCEC (*National Beef Cattle Evaluation Consortium*). En dicho trabajo se encontró una frecuencia mucho menor de dicho alelo (0,43) en la raza Brahman (n=344). Sin embargo, Schenkel et al (2006) hallaron en distintas razas *Bos taurus* (n=628), entre ellos un número reducido de Angus (n=12), una frecuencia semejante a la obtenida en este trabajo. Contrariamente a esto último, en reproductores de la raza Angus (n= 295) en Argentina la frecuencia de dicho alelo fue 0,80 (IPCVA, 2011).

Las frecuencias alélicas obtenidas en este estudio, así como las diferencias entre Angus y Brahman citadas en la bibliografía, sugieren que los alelos favorables para la terneza de ambos SNPs son más frecuentes en Angus y de frecuencia intermedia en Brangus. La importancia de las frecuencias alélicas en estos estudios, radica en que son indicadores de la factibilidad y la eficiencia de la selección en un programa de Selección Asistida por Marcadores o Genes (Dekkers, 2004). En este sentido, la selección para favorecer los alelos A en CAST-1 y C en UoG-CAST sería más efectiva en razas indicas y sus cruza porque los genes con frecuencias alélicas intermedias son los que mejor responden al proceso selectivo (Falconer, 1970).

Análisis de asociación

Ninguno de los marcadores resultó significativamente asociado con PV, AOB, AOB, EGD, EGD, GI, RC o color de la carne en novillos Brangus engordados sobre pasturas. Para el caso de GR y PGR se observó el efecto del marcador UoG-CAST, y en ambas variables las diferencias entre los animales con genotipo GG y los con genotipos CC y CG (Cuadro 4) fueron significativas ($p < 0,05$). Los animales con genotipo GG presentaron 33,3% y 23,5% más GR que los animales con genotipo CC y CG, respectivamente. Una tendencia semejante se observó en PGR, donde los animales con genotipos CC y CG tuvieron menor PGR que aquellos con genotipo GG (24% y 20,6% respectivamente). Este resultado sugiere que el alelo G favorecería la deposición de grasa perirrenal. No existen evidencias de una vinculación directa de CAST en la síntesis y deposición de lípidos en tejido adiposo. En este caso, el alelo asociado a valores más altos de GR y PGR es el que se vincula a menor terneza de la carne (Schenkel et al, 2006). El recambio (*turnover*) de proteínas tiene gran influencia en el gasto energético celular (Herd et al, 2004), teniendo en cuenta esto podría hipotetizarse que en el animal vivo un menor *turnover* de las proteínas musculares podría implicar un uso más eficiente de la energía a favor de la capacidad para crecer y depositar grasa.

El Cuadro 4 resume los resultados obtenidos para variables de calidad de carne. En ningún caso se observó efecto de estos SNPs sobre RC y los parámetros de color (L^* , a^* y b^*).

Barendse (2002) obtuvo el primer resultado de asociación de un marcador del gen CAST, el CAST-T1, con la terneza de la carne bovina. Posteriores validaciones de este marcador en distintas razas *Bos taurus*, *Bos indicus* y cruza confirmaron el efecto favorable del alelo A de dicho SNP sobre RC, hallando que animales homocigotas AA produjeron en promedio carne con menor RC que los animales AG o GG (revisado por Motter et al,

Cuadro 4: Medias de mínimos cuadrados y errores estándar de grasa de riñonada (GR), porcentaje de peso de grasa de riñonada (PGR), resistencia al corte (RC) y color (L^* , a^* y b^*) según el genotipo para dos marcadores del gen CAST.

Table 4: Least squares means and standard errors for kidney fat (GR), kidney fat percentage (PGR), Warner-Bratzler shear force (WBSF) and colour (L^* , a^* and b^*) according to genotypes of two CAST markers.

Marcador	Genotipos	n	GR (kg)	PGR (%)	RC (kg)	L^* ¹	a^* ¹	b^* ¹
CAST-T1	AA	168	3,01±0,18	1,20±0,05	6,89±0,13	39,03±0,19	21,33±0,25	12,02±0,13
	AG	72	2,80±0,20	1,13±0,06	6,94±0,15	38,84±0,24	21,36±0,27	12,00±0,15
	GG	7	2,29±0,41	0,92±0,14	7,00±0,39	39,08±0,69	21,70±0,55	12,05±0,39
UoG-CAST	CC	80	2,37±0,23 ^a	0,99±0,07 ^a	6,73±0,15	39,17±0,24	21,36±0,27	12,07±0,15
	CG	141	2,56±0,21 ^a	1,02±0,07 ^a	6,99±0,13	38,86±0,20	21,35±0,25	11,98±0,13
	GG	26	3,16±0,27 ^b	1,23±0,09 ^b	7,04±0,22	38,95±0,37	21,31±0,35	12,03±0,22

¹ Coordenadas de color: L^* = luminosidad, a^* = eje rojo-verde, b^* = eje amarillo-azul
Medias con letras distintas difieren significativamente ($p < 0,05$)

2009). El otro marcador utilizado en este estudio, UoG-CAST, también ha sido asociado con variabilidad en terneza (Schenkel et al, 2006). La diferencia de la RC en carne con 7 días de maduración en distintas razas *Bos taurus* (Angus, Limousin, Charolais, y Simmental) fue de 7,3%, entre el genotipo más tierno (CC) y el más duro (GG). La validación de ambos marcadores realizada por Van Eenennaam et al (2007) de ambos marcadores también confirmó dichos resultados, hallando un efecto de sustitución semejante para ambos alelos favorables (-0,15 y -0,19 unidades para el A y el C respectivamente).

En este trabajo, las medias de cada genotipo para cada marcador presentaron una tendencia consistente con experiencias previas, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Cuadro 4). En el marcador CAST-T1, el genotipo AA fue el más tierno ($6,89 \pm 0,13$), el GG el más duro ($7,00 \pm 0,39$) y el heterocigota el intermedio ($6,94 \pm 0,15$). El bajo número de animales con genotipo GG ($n=7$) y la escasa diferencia de RC entre genotipos, pueden ser factores que impidieron confirmar el efecto de dicho SNP en esta población analizada.

Un resultado semejante se observó con el marcador UoG-CAST (Cuadro 4), donde los valores de RC obtenidos fueron $6,73 \pm 0,15$ kg, $6,99 \pm 0,13$ kg y $7,04 \pm 0,22$ kg para los genotipos CC, CG y GG, respectivamente, y la diferencia entre CC y CG (-0,26 kg) presentó un valor cercano a la significancia estadística ($p=0,06$).

Recientemente un estudio de asociación (GWA, *Genome-Wide Association Analysis*) realizado con 3.360 animales de cinco razas diferentes (Angus, Hereford, Limousin, Simmental y Charolais), reveló que el mayor porcentaje de variación en la terneza estuvo explicada por SNPs localizados en una región de CAST más cercana al extremo 5' del gen respecto de la localización de los SNPs comerciales (McClure et al, 2012). Este hallazgo refuerza la hipótesis que CAST-T1 y UoG-CAST no son las mutaciones funcionales responsables de la variabilidad en terneza (revisado por Motter et al, 2009). McClure et al (2012) encontraron que el patrón de desequilibrio de ligamiento de la región del cromosoma 7 donde se localiza CAST es complejo y varía entre razas, hallando otros SNPs y no

los comerciales, más fuertemente asociados con RC. Brangus es una raza compuesta, con una contribución variable de dos razas genéticamente distantes (Angus y Brahman), por lo tanto es razonable pensar que la falta de asociación hallada en este trabajo podría estar relacionado con lo descrito por McClure et al, (2012). Para aumentar la probabilidad de hallar SNPs en el gen CAST que estén en fuerte desequilibrio de ligamiento con la mutación causal de las diferencias de terneza debidas al gen CAST en Brangus, es necesario realizar estudios con paneles de SNPs de alta densidad o ensayos de secuenciación.

Independientemente de los efectos genéticos, se evidenció una marcada influencia de los grupos de contemporáneos (origen/grupo de faena) sobre los valores de RC en coincidencia con los resultados encontrados por Melucci et al (2012) para un rodeo Hereford. Esto confirma que existen muchas fuentes de variación relacionadas a las condiciones de manejo de los animales antes y durante la faena, lo que exige un control riguroso de los protocolos experimentales en las evaluaciones de calidad de carne.

Conclusión

Los alelos previamente informados como favorables para la terneza de la carne en ambos marcadores analizados en este estudio (CAST-T1 y UoG-CAST), fueron los más frecuentes. No se halló asociación de ninguno de ellos con variables de la res y de calidad de carne, excepto para UoG-CAST sobre GR y PGR. Las medias de RC de cada genotipo para cada marcador mostraron la tendencia esperada, pero las diferencias entre genotipos no fueron significativas. Por sí solos, estos dos marcadores no tendrían buena capacidad predictiva en la selección de reproductores para mayor terneza en la raza Brangus.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con subsidios de la ANPCyT (PICTR 2002-00177) y de

UBACyT (programación 2010-2012-código 20020090100072)

Los novillos Brangus fueron aportados por criadores privados mediante gestión realizada por la Asociación Argentina de Brangus.

Bibliografía

- AOAC. 1992. Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry. 15th ed. Washington. 139–140.
- Baeza, M.C., Corva, P.M., Soria, L.A., Rincón, G., Pavan, E., and Medrano, J.F. 2012. Genetic variants in a lipid regulatory pathway as potential tools for improving the nutritional quality of grass-fed beef. *Anim. Genet.* doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02386.x.
- Baeza, M.C., Corva, P.M., Soria, L.A., Rincon, G., Medrano, J.F., Pavan, E., Villarreal, E.L., Schor, A., Melucci, L.M., Mezzadra, C.A. and Miquel, M.C. 2011. Genetic markers of body composition and carcass quality in grazing Brangus steers. *Genet. Mol. Res.* 10 (4) 3146–3156.
- Barendse, W.J. 2002. DNA markers for meat tenderness. International patent publication WO 02/064820.
- Casas, E., White, S.N., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Riley, D.G., Chase Jr, C.C., Jonson, D.D. and Smith, T.P.L. 2006. Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.* 84:520-525.
- CIE (Commission International de l'Éclairage) 1976. Official recommendations on uniform color spaces-Color difference equations and metric color terms. Suppl. N° 2. CIE Publication N° 15 Colorimetry. Paris.
- Corva, P.M., Fernandez Macedo, G.V., Soria, L.A., Papaleo Mazzucco, J., Motter, M.M., Villarreal, E.L., Schor, A., Mezzadra, C.A., Melucci, L.M. and Miquel, M.C. 2009. Effect of leptin gene polymorphisms on growth, slaughter and meat quality traits of grazing Brangus steers. *Genet. Mol. Res.* 8(1): 105–116.
- Curi, R.A., Chardulo, A.L., Mason, M.C., Arrigoni, M.D.B., Silveira, A.C. and De Oliveira, H.N. 2009. Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nellore beef cattle (*Bos indicus*) and in their crosses with *Bos taurus*. *Anim. Genet.* 40 (4): 456-462.

- Dekkers JC. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *J Anim Sci.* 82 (E-Suppl):E313-328.
- Falconer, D.S. 1970. Introducción a la genética cuantitativa. Traducido por Fidel Marquez Sanchez. CECSA, D.F., México, pp 47-49.
- Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H.Q., Wei, W. and Cong, J.Y. 2003. The calpain system. *Physiol. Rev.* 83, 731-801.
- Goll, D.E., Neti, G., Mares, S.W. and Thompson, V.F. 2008. Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains. *J. Anim. Sci.* 86 (14 Suppl): E19-35.
- Herd, R.M., Oddy, V.H. and Richardson, E.C. 2004. Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 1. Review of potential mechanisms. *Australian J. Exp. Agr.* 44: 423-430.
- IPCVa (Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina). 2011. Cuadernillo N° 11, 9-10.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscles proteinases and meat aging. *Meat. Sci.* 36: 93-104.
- McClure, M.C., Ramey, H.R., Rolf, M.M., McKay, S.D., Decker, J.E., Chapple, R.H., Kim J.W., Taxis, T.M., Weaver, R.L., Schnabel, R.D. and Taylor, J.F. 2012. Genome-wide association analysis for quantitative trait loci influencing Warner-Bratzler shear force in five taurine cattle breeds. *Anim. Genet.* 43 (6):662-673.
- Melucci, L.M., Panarace, M., Feula, P., Villarreal, E.L., Grigioni, G., Carduza, F., Soria, L.A., Mezzadra, C.A., Arceo, M.E., Papaleo, J., Corva, P.M., Irurueta, M., Rogberg-Muñoz, A. and Miquel, M.C. 2012. Genetic and management factors affecting beef quality in grazing Hereford steers. *Meat Sci.* 92 (4):768-74.
- Morris, C.A., Cullen, N.G., Hickey, S.M., Dobbie, P.M., Veenvliet, B.A., Manley, T.R., Pitchford, W.S., Kruk, Z.A., Bottema, C.D.K. and Wilson, T. 2006. Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked M. longissimus dorsi steaks from Jersey × Limousin, Angus and Hereford-cross cattle. *Anim. Genet.* 37: 411-414.
- Motter, M.M., Corva, P., Krause, M., Perez Cenci, M. y L.A. Soria. 2009. Calpastatina: su rol en la determinación de la variabilidad en terneza de la carne bovina. *BAG-J. Basic Appl. Genet.* 20 (1) 15-24.
- Muroya S., Neath K.E., Nakajima, I Oe M, Shibata, M., Ojima, K., Chikuni, K. 2012. Differences in mRNA expression of calpains, calpastatin isoforms and calpain/calpastatin ratios among bovine skeletal muscles. *Anim Sci J.* 83(3):252-259.
- Papaleo Mazzucco, J., Melucci, L.M., Villarreal, E.L., Mezzadra, C.A., Soria, L.A., Corva, P.M., Motter, M.M., Schor, A. and Miquel, M.C. 2010. Effect of ageing and μ -calpain markers on meat quality from Brangus steers finished on pastures. *Meat Sci.* 86 (3) : 878-882.
- Raynaud, P., Jayat-Vignoles, C., Laforet, M.P., Leveziel, H. and Amarger, V. 2005. Four promoters direct expression of the calpastatin gene. *Arch Biochem Biophys* 437 (1): 69-77.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Appendix E3. 2nd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.
- SAS Institute Inc. 1998. SAS/STAT User's guide, Version 8. SAS Inst Inc, Cary, NC.
- Schenkel, F.S., Miller, S.P., Jiang, Z., Mandell, I.B., Ye, X., Li, H. and Wilton, J.W. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:291-299.
- Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Cundiff, L.V., Gregory, K.E., Rohrer, G.A. and Savell, J.W. 1994. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. *J. Anim. Sci.* 72:857-863.
- Soria, L.A., Corva, P.M., Branda Sica, A., Villarreal, E.L., Melucci, M.L., Mezzadra, C.A., Papaleo Mazzuco, J., Fernández Macedo, G., Silvestro, C., Schor, A. and M.C. Miquel. 2009. Association of a novel polymorphism in the bovine PPARGC1A gene with growth, slaughter and meat quality traits in Brangus steers. *Mol. Cel. Probes.* 23: 304-308.
- Van Eenennaam, A.L., Li, J., Taïman, R.M., Quaas, R.L., Dikeman, M.E., Gill, C.A., Franke, D.E. and Thomas, M.G. 2007. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *J. Anim. Sci.* 85:891-900.
- Wendt, A., Thompson, V. F. and Goll, D.E. 2004. Interaction of calpastatin with calpain: A review. *Biol. Chem.* 385, 465-472.
- Wulf, D.M. and Page, J.K. 2000. Using measurements of muscle color, pH, and electrical impedance to augment the current USDA beef quality grading standards and improve the accuracy and precision of sorting carcasses into palatability groups. *J. Anim. Sci.* 78:2595-2607.