



MARCADORES GENÉTICOS ASOCIADOS A CALIDAD DE CARNE EN UNA MUESTRA DE REPRODUCTORES DE RAZA HEREFORD.

Kelly L.³; Solares E.¹; Ravagnolo O¹; Rincón G.²; Capdevielle F³.

¹ INIA-LB; PROCISUR. ² INIA-LB. ³ Universidad de Davis. USA.

³: INIA-Las Brujas. Ruta 48, Km 10. Rincón del Colorado. Las Piedras-Canelones. Uruguay. e mail: lkelly@lb.inia.org.uy

RESUMEN

El Uruguay es un país exportador de carne debiendo adaptar su calidad a los requerimientos de diferentes mercados internacionales. Estos mercados valoran el estado sanitario de la carne así como la terneza y el veteado que son indicativos de la calidad. El objetivo de este trabajo es estudiar la frecuencia de los alelos de genes vinculados a calidad de carne en una población Hereford de pedigree. Se estudiaron, en una muestra de individuos (51 a 38) de diferentes regiones del país, las frecuencias de los polimorfismos de tiroglobulina (TG5) y de calpaína (CPN1530) mediante PCR-RFLP. Los resultados de las frecuencias del alelo favorable para terneza: CPN1 530 fue de 86,8% (G) y de marmoleo para TG5 de 33,4% (T). Se realizó el test de c2 resultando muy significativo para TG5 y no significativo para CAPN1. Además se utilizaron técnicas multivariadas para estimar la posible existencia de subgrupos dentro de la muestra, observándose diferencias entre ellos. Se concluye que para los polimorfismos estudiados de los genes TG5 y CAPN1 las frecuencias fueron de intermedia a alta para marmoleo y terneza respectivamente.

SUMMARY

As a quality meat exporter, Uruguay is required to meet standards from different international markets. Such markets highly regard sanitary status, tenderness and marbling as quality indicators. The objective of this study is to estimate allelic frequencies for genes associated with meat quality in a Hereford population. Polymorphism frequencies for tiroglobulin (TG5) and calpain (CPN1 530) were studied in a sample of individuals from different country locations using PCR-RFLP. Results showed favorable allele frequencies for tenderness: CPN1 530 was 86,8% (G) and marbling: TG5 was 33,4% (T). An overall c2 test was highly significant for TG5 and not significant for CAPN1. Besides, multivariate procedures were applied to estimate possible clusters within the sample studied, suggesting possible frequency differences between them. In conclusion, for TG5 and CAPN1 polymorphisms, frequencies within this sample of Hereford were intermediate to high for marbling and tenderness, respectively.

INTRODUCCIÓN

La importancia de la carne bovina en la economía del

Uruguay demanda adecuarse a requerimientos de calidad establecidos por diferentes mercados. Actualmente con el desarrollo del genoma bovino se han descrito varios marcadores moleculares (MM) asociados a la calidad de carne. Estos MM vinculados a calidad de carne se encuentran en diferentes regiones de los cromosomas denominadas QTL (loci de características cuantitativas). En esas regiones se han identificado GENES CANDIDATOS que pueden afectar las características cuantitativas en estudio, como los genes de: miofibrillas (calpastina, calpaína:CAPN1) y los que intervienen en la deposición de grasa (Tiroglobulina: TG, Leptina y DGAT1). El objetivo del presente trabajo consiste en analizar la distribución de algunas variantes que podrían aportar mejor calidad a la carne, como la TG y CAPN1, en una muestra de ganado Hereford. La TG interviene en el depósito de grasa entre los fascículos de los músculos (marmoleo) y es altamente heredable (h² de 0,38 a 0,65) (Dikeman y col. 2005). Según algunos estudios, los animales que poseen el genotipo TT tienen mayor veteado (3,5% sobre el lomo: LD) que los animales con el alelo C (Thaller y col. 2003). Sin embargo existen discrepancias entre el porcentaje de producción de carne con el consumo del alimento por un lado y el % de grasa intramuscular y la capa de grasa (Bussrow y col, 2003). Por lo tanto este gen es un poco controversial según diferentes autores dependiendo de la expresión del genotipo, del manejo y la nutrición, siendo recomendable para su uso una validación en las condiciones de nuestro país.

La CAPN1 presenta 3 mutaciones (SNP) que afectan la terneza: 530, 316, y 4751 (Page y col. 2002). Su función es codificar la subunidad grande de una proteasa que activa el calcio micromolar que degrada las proteínas miofibrilares (Casas y col, 2005). Presenta un efecto moderado produciendo un desvío estándar de 0.4 en la fuerza de la cuchilla Warner-Bratzler (WB). La selección más eficiente es el haplotipo: 316CC-530G que disminuye un 1.8 lb en la fuerza al corte con Warner-Bratzler (www.frontierbeeffsystems.com). Nuestro objetivo en primera instancia es determinar sus frecuencias en una muestra de la raza Hereford. Sin embargo todos esos marcadores se probarán experimentalmente en nuestro país, con el fin de validarlo para nuestras condiciones de cría y relacionarla con otras características productivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra esta constituida por novillos Hereford de diferentes regiones del país (prueba comparativa

implementada en Kiyú). El análisis de DNA se realizó con las técnicas de PCR-RFLP descritas por Thaller y col. (2003) para TG5 y por Rincón y Medrano (2006) para CAPN1. El mix se realizó con siguientes reactivos: Buffer de PCR, dNTPs y Taq DNA polimerasa (Fermentas®), MgCl₂ (25mM) y los cebadores F y R (Operon®) (Tabla1). El corte del fragmento amplificado se realizó con la enzima de restricción P_{st}I para la TG5 y la P_{st}I para la CAPN1. La separación de fragmentos amplificados se realizó en gel de agarosa al 3%. A partir de los fragmentos de ADN observados se calcularon las frecuencias genotípicas y génicas y se realizó un test estadístico (chi-cuadrado) para equilibrio genético en la muestra de animales considerados. En base a la información conjunta de los genotipos identificados para ambos genes se utilizaron técnicas multivariadas para estimar la posible existencia de subgrupos dentro de la muestra; el método "Density-based-clusterer" implementado por el software WEKA para minería de datos (Witten y Frank, 2005) lo que permitió asignar individuos a subgrupos calculandose chi-cuadrado para equilibrio genético dentro de cada uno.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

Los cálculos de frecuencias genotípicas y génicas se realizaron por un lado considerando una muestra homogénea de individuos (sin subgrupos poblacionales, Ta-

bla 2) y por otro lado considerando que algunos individuos pertenecen a diferentes subgrupos poblacionales (inferidos mediante el software WEKA, Tabla 3).

De acuerdo a lo observado en la Tabla 2 las frecuencias de los alelos favorables fueron de 33,3% para TG5 y de 86,8% para CAPN1530. El primer caso presentó una frecuencia intermedia y la población estuvo en desequilibrio genético con un aumento en los heterocigotos,

encontrándose en los subgrupos (tabla 3) diferencia entre los mismos. Las posibles causas podría ser debido a que: pertenecen a diferentes rodeos; podría haber influencia en la selección para el fenotipo de marmoreo TT (recesivo) o que existe influencia de otros genes de marmoreo (DGAT1) que se encuentran en el mismo cromosoma (BTA 14).

A continuación se muestran los geles de agarosa al 3% del producto de PCR-RFLP de TG5 y CAPN1.

Para la CAPN1 la frecuencia del alelo favorable fue alta (G), como era de esperar, según lo descrito por otros autores en *Bos taurus*, en las que se encuentra casi fijado (Corva y col., 2005). La población en principio se encontró en equilibrio genético, quizás porque la influencia de la mutación 530 es menor sobre la terneza que la mutación 316 y no estaría muy influida por la selección. Se concluye que los polimorfismos estudiados de los genes TG5 y CAPN1 las frecuencias fueron de intermedia a alta para marmoreo y terneza respectivamente en la muestra estudiada de la raza Hereford.

Tabla 1. Cebadores utilizados en el PCR de los genes estudiados y fragmentos (pares de bases: pb) generados por los diferentes genotipos.

Gen	Secuencia	TT	CC	TC
TG5U2-F	GGGGATGACTACGAGTATGACTG			
TG5D1-R	GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA	473,75pb	295,178,75pb	473,295,178,75pb
CAPN530-F	CGTTTCTTCTCAGAGAAGAGCGCAGGGA	GG	AG	AA
CAPN530-R	CCTGCGCCATTACTATCGATCGCAAAGT	195, 146pb	341,195,146pb	341pb

Tabla 2. Frecuencias génicas, genotípicas y test de equilibrio genético para la muestra completa.

Gen	Fr. Genotípica			Fr. Génica		Test de eq. Génico.
	TT	TC	CC	T	C	
TG5	0,02	0,63	0,35	0,334	0,667	$\chi^2_{1}=34,49$; $P<0,001^*$ n=51
CALP ₅₃₀	0,76	0,21	0,03	0,868	0,132	$\chi^2_{1}=0,225$; $P<0,70$ n=38

* Desequilibrio genético muy significativo. En negrita las frecuencias génicas de los alelos más favorables.

Tabla 3. Frecuencias génicas, genotípicas y test de equilibrio genético para cada cluster.

Gen	Cluster	Fr. Genotípica			Fr. Génica		Test de eq. Génico.
		TT	TC	CC	T	C	
TG5	I	0,02	0,66	0,32	0,352	0,647	$\chi^2_{1}=8,7$; $P<0,01^*$ n=44
	II	0	0,43	0,57	0,214	0,786	$\chi^2_{1}=0,52$; $P<0,30$ n=7
CALP ₅₃₀	I	0,97	0	0,03	0,97	0,03	$\chi^2_{1}=33,13$; $P<<0,001^*$ n=30
	II	0	1	0	0,5	0,5	$\chi^2_{1}=8$; $P<0,01^*$ n=8



Mpm TC TT TT TC TC TT TC - - CC

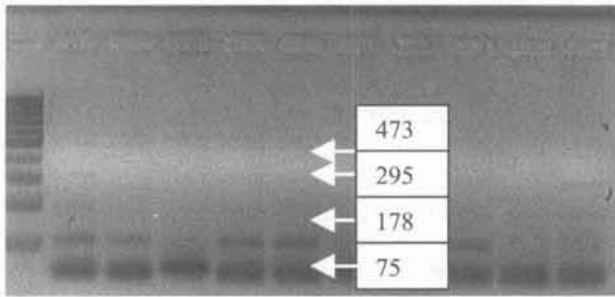


Figura 1: Gel de agarosa con los fragmentos del corte de la TG5. El marcador de peso molecular (Mpm) 100bp ladder de Fermentas® presentando los siguientes fragmentos: 100, 200, 300, 400, 500.

AG - GG GG GG GG GG GG Mpm100bp

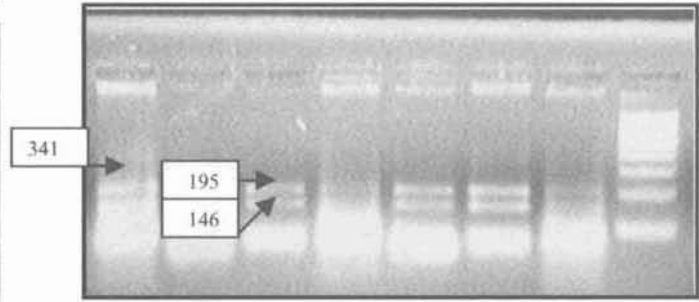


Figura 2: Gel de agarosa al 3% con los fragmentos del corte de la CAPN1⁵³⁰.

Agradecimientos: PROCISUR, Sociedad de Criadores Hereford, Andrea Branda.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Burrow H.M. y col. 2006. Australia. CRCCBC. Poster 360.
 Casas E.y col. 2005. J. Anim. Sci. 83:13-19.
 Corva, PM, y col. 2005. XXXIV Congreso de Genética. Trelew. Argentina.

Dikeman M.E. y col. 2005. J.Anim.Sci.83:2461-2467.
 Page B.T.y col. 2002. J. Anim. Sci. 80: 3077-3085.
 Rincón G. y Medrano J.F. 2006. Anim. Genet. 37 (3):294-5.
 Thaller G. y col. 2003. Animal Genetics. 34: 354-357.
 Witten, y Eibe. 2005. "Data Mining: Practical machine learning tools and techniques", 2nd Edition, Morgan Kaufmann, San Francisco, 2005.