

Genomic and phenotypic beef quality indicators of Charolais cattle in México[□]

Indicadores genómicos y fenotípicos para calidad de la carne en bovinos Charolais de México

Indicadores genómicos e fenotípicos na qualidade da carne do gado Charolês no México

Carmen Y Muñoz Mejía¹, QBP, MSc; Gaspar M Parra Bracamonte^{*}, MVZ, MSc, Dr; Ana M Sifuentes Rincón¹, QFB, MSc, Dr; Juan C Martínez González², IAZ, MSc, Dr; Luis A López Bustamante³, MVZ; Williams A Vera¹, MVZ, MSc; Xochitl F de la Rosa Reyna¹, Biol, MSc.

¹Laboratorio de Biotecnología Animal, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa, Tamps. México.

²División de Estudios de Postgrado e Investigación-Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Victoria, Tamps., México.

³Charolais Herd-Book de México, Guadalupe, N. L., México.

(Recibido: 18 enero, 2011; aceptado: 21 agosto, 2011)

Summary

*Tenderness and marbling are polygenic traits used as indicators of good meat quality. Among different genes related to meat quality, μ -calpain (CAPN1) and thyroglobulin (TG5) have been specifically linked to tenderness and marbling, respectively. **Objectives:** to estimate the allelic and genotypic frequencies of markers in CAPN1 and TG5 genes, and relate their presence to beef carcass quality. **Methods:** CAPN1 and TG5 polymorphisms were identified by PCR-ACRS and PCR-RFLP, respectively, validating their putative effects on beef carcass using real time ultrasound in Charolais candidate sires (n=80). **Results:** computed genotypic frequencies in CAP4751 and TG5 showed Hardy-Weinberg equilibrium, while CAP316 expressed deviation from equilibrium. Association analysis indicated a significant effect of CAP4751 on rib eye area (REA) ($p<0.05$) and intramuscular fat (IMF) ($p<0.10$), while TG5 showed a significant trend on yield grade (YG). **Conclusions:** these results support the use of these markers for assessing traits related to meat quality, and warrant further studies to validate their use in cattle herds for breeding purposes.*

Key words: calpain, charolais cattle, PCR-ACRS, PCR-RFLP, thyroglobulin.

Resumen

La ternera y el marmoreo son características poligénicas e indicadoras de calidad en la carne bovina. Uno de los genes relacionados con la ternera en la carne es el gen de μ -calpaína (CAPN), en el cual se han

[□] Para citar este artículo: Muñoz CY, Parra GM, Sifuentes AM, Martínez JC, López LA, Vera WA, De la Rosa XF. Indicadores genómicos y fenotípicos de calidad de la carne en bovinos Charolais de México. Rev Colomb Cienc Pecu 2012; 25:210-219.

^{*} Autor para correspondencia: Gaspar M. Parra Bracamonte. Correo electrónico: gparra@ipn.mx. Centro de Biotecnología Genómica. Instituto Politécnico Nacional. Boulevard del Maestro S/N esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, C.P. 88710. Apartado Postal No. 152. Cd. Reynosa, Tamaulipas, México. Tels.: RED INSTITUCIONAL +52(55) 5729 6000. DIRECTO: +52(899) 924 3627, 925 1656, 925 3996. Ext. 87743, 87709.

identificado dos polimorfismos CAPN316 y CAPN4751 asociados significativamente a esta característica. En el gen de la Tiroglobulina (TG5) relacionado con el marmoleo, se ha identificado un polimorfismo en la posición -537 del gen, asociado a la deposición de grasa intramuscular en bovinos. **Objetivo:** estimar las frecuencias genotípicas y alélicas de tres marcadores genéticos y su asociación con características de calidad de la carne bovina. **Métodos:** a partir de muestras de sangre de 80 toretes Charolais de 12 meses de edad mantenidos en pruebas de comportamiento, se caracterizaron polimorfismos en los marcadores CAPN316 y CAPN4751 identificados mediante el diseño de oligonucleótidos y la creación de sitios de restricción en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR-ACRS) y de TG5 identificado mediante PCR-RFLP, se utilizaron cebadores previamente reportados. **Resultados:** las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos de CAPN4751 y TG5 mostraron estar en equilibrio genético; más no para CAPN316. Los análisis de asociación mostraron una diferencia significativa del marcador CAPN4751 sobre el área del músculo Longissimus dorsi (REA) ($p < 0.05$) y grasa intramuscular (IMF) ($p < 0.10$); mientras que para TG5 hubo una tendencia significativa sobre el grado de rendimiento (YG). **Conclusiones:** dichos resultados sugieren el efecto potencial de estos marcadores comerciales sobre características de la carne, el estudio propone su uso sinérgico como complemento informativo de indicadores de la calidad en animales reproductores, pero resalta la necesidad de validación extensiva en poblaciones particulares para fomentar su uso en el mejoramiento de la ganadería para carne.

Palabras clave: calpaina, ganado charolais, PCR-ACRS, PCR-RFLP, tiroglobulina.

Resumo

A maciez e o marmoreio são características poligênicas e indicadoras de qualidade da carne. Um dos genes relacionados à maciez da carne é o gene da μ -calpaina (CAPN1), no qual se tem identificados dois polimorfismos CAPN316 e CAPN4751 associados significativamente com esta característica. No gene da tiroglobulina (TG5) relacionado com o marmoreio, se tem identificado um polimorfismo na posição -537. **Objetivo:** estimar as frequências genotípicas e alélicas de três marcadores genéticos (SNP) e fazer a respectiva associação dos genótipos e alelos com os indicadores de qualidade da carne, obtendo um efeito significativo sobre algumas características de carcaça estimada pela ultrassonografia em tempo real em touros Charolês no noroeste do México. **Métodos:** foram identificados polimorfismos em três marcadores SNP a partir de 80 amostras de sangue de novilhos Charolês, sendo os SNP CAPN4751 e CAPN316 identificados após o desenho de oligonucleotídeos iniciadores e a criação de sítios de restrição na reação em cadeia da enzima polimerase (PCR-ACRS). O marcador TG5 foi identificado por PCR-RFLP com sequências de oligonucleotídeos previamente reportadas. **Resultados:** Os polimorfismos CAPN4751 e TG5 mostraram estar em equilíbrio genético, mas o CAPN316 está em desequilíbrio. A análise de associação demonstrou uma diferença estatística significativa para o marcador CAPN4751 em área do músculo Longissimus dorsi (REA) ($p < 0.05$) e gordura intramuscular (MI) ($p < 0.10$), enquanto que para TG5 houve efeito significativo sobre rendimento (YG). **Conclusões:** Estes resultados sugerem o efeito potencial destes marcadores comerciais para melhorar as características de qualidade da carne. O estudo propõe a utilização das informações sinérgicamente com os indicadores fenotípicos de qualidade da carne, mas salienta a necessidade da validação extensiva em populações específicas para incentivar a sua utilização no melhoramento de gado de corte.

Palavras chave: calpaina, gado charolês, PCR-ACRS, PCR-RFLP, tiroglobulina.

Introducción

Algunos países han logrado gran desarrollo en la organización de su industria cárnica estableciendo criterios de clasificación y ofreciendo incentivos económicos a los productores bajo estándares de calidad establecidos (Hocquette y Gigli, 2005).

México, posee una industria ganadera significativa con gran variabilidad de razas (CONARGEN, 2001) y sistemas de producción bovina que limitan el establecimiento de criterios homogéneos de crianza y producción. Dentro de sus sistemas de producción destaca la ganadería de pie de cría, productora de ejemplares para sistemas de cruces comerciales. Estos reproductores logran altos

precios de venta dependiendo de su conformación racial e información adicional que avale su potencial genético (AGCGB, 2006).

Una técnica auxiliar en pruebas de comportamiento para la predicción del potencial genético y clasificación sin necesidad del sacrificio, útil para la selección de futuros sementales es la ultrasonografía, cuyo objetivo es evaluar características de rendimiento y calidad de la canal en vivo (Wilson, 1992; Bergen *et al.*, 2005).

La genómica ha sido fundamental en el descubrimiento de la arquitectura genética de características productivas identificando variantes alélicas que predicen la habilidad para desarrollar dichos rasgos (Allan y Smith, 2008; Hocquette y Gigli, 2005). En México, algunos ganaderos, se han interesado en las pruebas de ADN bovino (p.e. SNPs) para determinar variantes favorables en características de calidad de la carne (terneza y marmoleo), sometidas regularmente a procesos de validación (Smith *et al.*, 2009; Van Enennaam *et al.*, 2007b).

Entre los genes de la terneza está el de la Calpaína (*CAPNI*), que posee dos SNPs, *CAPN316* ubicado en el exón 9, y *CAPN4751*, localizado en el intrón 17 y exón 18, asociados a este rasgo (Page *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005). Otro factor determinante de la calidad es el marmoleo (Thallman, S/A), cuyo gen codificante es la Tiroglobulina (TG); en el cual se encuentra un SNP en la posición -537 de la región promotora 5' no traducible asociado a esta característica (Barendse, 1999; Barendse *et al.*, 2004).

La integración de técnicas de rutina como las mediciones fenotípicas de la canal por ultrasonografía y biotecnologías de ADN pueden promover nichos importantes de comercialización sobre todo en sistemas de producción de pie de cría. El objetivo de este estudio fue estimar las frecuencias genotípicas y alélicas de tres marcadores genéticos y examinar su efecto sobre algunas características de calidad de la canal en vivo, de toretes Charolais, una de las principales razas productoras de carne, en el noroeste de México.

Materiales y métodos

Material biológico

Fueron recolectados 3 ml de sangre en tubos de ensayo con anticoagulante (EDTA al 15%) de 80 toretes de un año de edad, futuros sementales de raza Charolais, los cuales fueron muestreados aleatoriamente de dos hatos diferentes: Centros de Pruebas de Comportamiento Productivo “El Perú” y “El Patrocipes”, en Hermosillo, Sonora, México, y siendo sometidos a pruebas de comportamiento realizadas en dos periodos (verano del 2008 e invierno del 2009).

Dichos animales fueron sometidos a la misma alimentación incluyendo un período de adaptación de siete días. Las muestras fueron almacenadas a 4 °C hasta su procesamiento.

Evaluación de características de la canal

La medición de características de la canal por ultrasonografía en tiempo real, se realizó mediante un transductor de señal (17 cm modelo 5040 conectado a un equipo Aloka SSD-500 V) y el procesamiento de imágenes fue realizado con el software CUP (Centralized Ultrasound Processing).

Las características de la canal evaluadas fueron área del músculo *Longissimus dorsi* (REA) y grasa dorsal (RBF), estimadas mediante el software antes mencionado con imágenes capturadas por ultrasonografía utilizando el plano transeccional entre las 12^a y 13^a costillas, la grasa intramuscular (IMF) fue estimada utilizando el promedio de cuatro imágenes tomadas en posición longitudinal al musculo músculo *Longissimus dorsi*. La grasa a la cadera (RPF), tomo en consideración la posición transeccional entre los huesos de la cadera de acuerdo a las recomendaciones del ICAR (2005). El grado de rendimiento (YG) se estimó utilizando el índice de predicción propuesto por el USDA, relativo a la correlación con la grasa dorsal opuesta al REA (USDA, 2005)

Aislamiento y cuantificación de ADN

Las muestras biológicas de sangre recolectadas fueron trasladadas al laboratorio de Biotecnología

Animal del CBG-IPN, donde se continuó con la extracción de ADN genómico siguiendo el protocolo estandarizado del estuche comercial de purificación de ADN Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Corporation®).

Detección cualitativa de los genes CAPN1 y TG5

Para determinar las frecuencias de los marcadores del gen CAPN1 (316 y 4751) se diseñaron dos ensayos mediante PCR-ACRS (creación de sitios de restricción durante la reacción en cadena de la polimerasa), utilizando el programa WatCut (Palmer, 2007). Para las secuencias de los oligonucleótidos diseñados para la amplificación de los fragmentos 316 y 4751 se consideraron las secuencias reportadas en el GenBank con los números de acceso que se muestran en la tabla 1.

Para la identificación del marcador de Tiroglobulina se utilizó la técnica de PCR-RFLP utilizando las secuencias de los oligonucleótidos ya reportadas por Barendse *et al.* (2004) (Tabla 1). El programa de amplificación utilizado en las reacciones de PCR para ambos genes fue TD55, basado en la técnica de “Touch down” (McPherson y Moller, 2000; 2006).

C y de 148 pb y 88 pb para el homocigoto T; los patrones de bandas para el marcador CPN316 fueron de 251 pb para el genotipo homocigoto G, el patrón de bandas para el genotipo homocigoto C fue de 229 pb y 22 pb. El polimorfismo de TG5, fue detectado mediante la técnica de PCR-RFLP, digiriendo los PA de 545 pb con la enzima de restricción MboI, a 37 °C por 12 h, en este caso tal como ha sido reportado por Barendse *et al.* (2004), los productos de la digestión se visualizaron sobre un gel de acrilamida-bisacrilamida al 20%, donde los patrones esperados fueron bandas de 73pb, 177pb y 278pb para el homocigoto GATC y para el homocigoto GATT bandas de 73pb, 193pb y 278pb. En todos los casos, los productos esperados se tiñeron con el fluoroforo SYBR gold 1X (SYBR® Gold Nucleic Acid Gel Stain, Eugene, OR, USA) y se visualizaron con luz UV.

Análisis estadísticos

Las frecuencias genotípicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg así como el desequilibrio de ligamiento fueron analizadas en el programa GENEPOP versión 4.0 (Rousset, 2008).

Tabla 1. Secuencias de oligonucleótidos (Iniciadores) para la identificación de los polimorfismos de los genes CAPN1 y TG5.

Marcador	No. Acceso	Iniciador (Sentido)	Iniciador (Antisentido)	SNP
316 (CAPN1)	AF252504	5'-CTACAGCTCCTCGGATGGAAGG-3'	5'-ATCTCCAGGCGGGTGAATTC-3'	G/C
4751 (CAPN1)	AF248054	5'-CAGACAAAGACCTGCGGACC-3'	5'-CACTTGACACAGCCCTGCGCCCC-3'	T/C
TG5	M35823	5'-GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA-3'	5'-GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3'	C/T*

*SNP reportado y clasificado por Barendse *et al.* (2004) como alelo 2 (C) y alelo 3 (T).

Genotipificación de los marcadores polimórficos

Para la identificación de los polimorfismos de los marcadores 316 y 4751 de CAPN1, se diseñaron iniciadores que contenían los sitios de restricción para HaeIII y MspI (Promega Corporation®), respectivamente. Los productos amplificados (PA) de 251pb para el marcador CAPN316 y de 261pb para CAPN4751 fueron digeridos a 37 °C por 12 h a una concentración enzimática final de 1 U/μl y visualizados sobre una matriz de agarosa (NuSieve®) al 4 y 4.5%. En el caso del marcador CAPN4751 se espera un patrón de 148 pb y 25 pb para el genotipo homocigoto

El ensayo de análisis de asociación de los marcadores sobre las características fenotípicas de la canal, se realizó con un ajuste en un análisis lineal general y el procedimiento GLM, así como la prueba de comparación de medias mediante el método de mínima diferencia significativa del paquete estadístico SAS (2001) (nivel de significancia: p<0.10; p>0.05). El siguiente modelo fue empleado para el ajuste de las variables estudiadas: $Y_{ijk} = M + GE1_i + G2_j + G3_k + e_{ijk}$. Donde: Y_{ijk} = REA, YG, RBF, RPF, IMF, donde M = Media general, $G1_i$ = Efecto fijo del i-ésimo genotipo del locus TG5 (i = 2/2, 2/3, 3/3), $G2_j$ = Efecto fijo del

j-ésimo genotipo del locus CAPN316 ($j=CC, CG, GG$), $G3_k$ =Efecto fijo del k-ésimo genotipo del locus CAPN4751 ($k=CC, CT, TT$) y e_{ijk} =Error aleatorio.

Resultados

Indicadores genómicos

El análisis de las frecuencias genotípicas observadas para el marcador CAPN316 demostró una limitada segregación del alelo favorable C para la terneza ($f=0.19$); así como en la combinación heterocigótica, produciendo desequilibrio genético entre sus frecuencias genotípicas ($p<0.01$). En cambio, el alelo G de este mismo marcador se presentó en una frecuencia de 81% (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes CAPN1 y TG5, en 80 bovinos Charolais del noroeste de México.

Marcador	n	Frecuencias genotípicas		Frecuencias alélicas		HW
CAPN316						
	50	G/G	0.63	G	0.81	**
	29	G/C	0.36	C	0.19	
	1	C/C	0.01			
CAPN4751						
	33	T/T	0.41	T	0.61	NS
	32	C/T	0.40	C	0.39	
	15	C/C	0.19			
TG5						
	39	2/2	0.49	2	0.70	NS
	33	2/3	0.41	3	0.30	
	8	3/3	0.10			

HW = Equilibrio de Hardy-Weinberg; **($p<0.01$); NS= ($p>0.05$).

Por su parte, el marcador CAPN4751, mostró frecuencias genotípicas en equilibrio genético ($p>0.05$) y una segregación normal de los homocigotos favorables para la terneza en 19 y 40% en los heterocigotos. Adicionalmente, el análisis de desequilibrio de ligamiento entre los alelos de los loci de CAPN1 indicó que para esta población ambos loci se segregan independientemente.

El marcador TG5 de la Tiroglobulina presentó baja frecuencia de los homocigotos 3/3 (10%)

favorables para el marmoleo y sus heterocigotos 2/3 (41%); no así, para los homocigotos 2/2 (49%) que mostraron un incremento en sus frecuencias; asumiendo estar en equilibrio genético en su segregación ($p>0.05$). Las frecuencias génicas presentaron una disminución en la frecuencia del alelo favorable 3 (30%) y un incremento en la frecuencia del alelo 2 del 70% (Tabla 2).

Indicadores fenotípicos

Las características de la canal fueron indirectamente estimadas mediante ultrasonografía en tiempo real. Para los animales incluidos en el presente trabajo fueron estimadas cinco características REA, RBF, RPF, IMF y YG, con medias generales de 10.6 ± 1.96 pulg², 0.17 ± 0.06 pulg, 0.11 ± 0.04 pulg, $2.63 \pm 0.65\%$ y $2.44 \pm 0.15\%$, respectivamente.

La estimación del efecto de los genotipos identificados en los tres loci analizados se puede observar en la tabla 3, donde se muestra la comparación de medias de cuadrados mínimos para las características de REA e IMF. Dichos análisis mostraron que en el gen de CAPN1, solamente el marcador CAPN4751 mostró una diferencia significativa sobre las características de REA ($p<0.05$) e IMF ($p=<0.10$). Mientras que para REA, el genotipo favorable T/T registró una media de 9.38 ± 0.72 pulg², la cual fue menor con respecto a los genotipos C/C (10.63 ± 0.82 pulg²) y C/T (10.55 ± 0.68 pulg²); para IMF, la media del genotipo T/T ($2.98 \pm 0.26\%$) fue mayor en comparación con los genotipos C/T ($2.64 \pm 25\%$) y C/C ($2.57 \pm 0.29\%$).

Por otro lado, para el gen TG5, los genotipos 3/3, 2/3 y 2/2, mostraron un efecto de baja significancia estadística sobre la característica de YG ($p=0.06$), característica relacionada con el contenido de carne magra, que se encuentran entre los parámetros de evaluación en un "score" de marmoleo en la carne (Garrett y Hinman, 1971). En el presente estudio, se encontró que la media de YG fue ligeramente mayor para el genotipo 3/3 (2.47 ± 0.04), con respecto al genotipo 2/3 (2.45 ± 0.03) y 2/2 (2.40 ± 0.03) (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de los genotipos de CAPN1 y TG5 sobre las características de la canal por ultrasonografía de bovinos Charolais en México.

Locus	Genotipo		REA	RBF	RPF	YG	IMF
CAPN316		p=	0.5508	0.8848	0.4287	0.8885	0.8478
	GG		10.73±0.32	0.17±0.009	0.11±0.008	2.43±0.01	2.66±0.11
	GC		10.91±0.43	0.17±0.012	0.10±0.010	2.44±0.02	2.60±0.15
	CC		8.93±1.84	0.19±0.055	0.14±0.042	2.45±0.09	2.49±0.67
CAPN4751		p=	0.0347**	0.4097	0.4438	0.6669	0.0920*
	TT		9.38±0.72 ^b	0.17±0.02	0.11±0.01	2.45±0.03	2.98±0.26 ^a
	CT		10.55±0.68 ^a	0.17±0.02	0.12±0.01	2.43±0.03	2.64±0.25 ^b
	CC		10.63±0.82 ^a	0.19±0.02	0.13±0.01	2.44±0.04	2.57±0.29 ^{ab}
TG5		p=	0.8115	0.2394	0.3407	0.0643*	0.5872
	2/2		9.97±0.65	0.17±0.01	0.11±0.01	2.40±0.03 ^b	2.62±0.23
	2/3		10.12±0.69	0.19±0.02	0.13±0.01	2.45±0.03 ^a	2.78±0.25
	3/3		10.47±0.96	0.17±0.02	0.12±0.02	2.47±0.04 ^{ab}	2.80±0.35

REA= *Longissimus dorsi* (pulgadas²), RBF= grasa dorsal (pulgadas), RPF= grasa a la cadera (pulgadas), YG= grado de rendimiento, IMF= porcentaje de grasa intramuscular (%), *(p<0.10). **(p <0.05); a,b= literales para cada genotipo que indican diferencia estadísticamente significativa.

Discusión

En el presente trabajo, se analizaron tres marcadores genéticos relacionados con la calidad de la carne y algunas características productivas de importancia económica. Los SNPs CAPN316 y CAPN4751 han sido significativamente relacionados con la terneza de la carne (Page *et al.*, 2004; Thompson *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005) en diferentes poblaciones bovinas (*B. taurus* y *B. indicus*); por lo tanto se ha sugerido, que la sola frecuencia de los alelos favorables, en homocigosis e incluso heterocigosis representa un evento que favorecería, al menos teóricamente, la producción de carne bovina con mayor terneza (Parnell, 2004; Parra-Bracamonte *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2004).

En la última década un gran cúmulo de reportes ha sido publicado sobre las prevalencia de estos *loci* en diferentes razas bovinas (Casas *et al.*, 2004; Corva *et al.*, 2007; Franke *et al.*, 2008; Page *et al.*, 2004; Parnell, 2004; Parra-Bracamonte *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2000; Thompson, 2004; White *et al.*, 2005). Previamente, Parra-Bracamonte *et al.* (2009) reportaron en ganado Charolais de la región noreste de México, resultados similares a los obtenidos en este trabajo, donde atribuyen las frecuencias obtenidas al manejo particular de los hatos estudiados en los que básicamente los animales se seleccionan para características de crecimiento.

En la actualidad, la comercialización de kits de marcadores moleculares (GeneStar[®], TenderGene[®]) específicos para características de importancia económica, disponibles para el diagnóstico de la terneza o suavidad de la carne bovina ha cobrado gran auge en los últimos años, gracias a los estudios de validación que sustancialmente han probado el efecto significativo de estos *loci* sobre la característica deseada (Van Enennaam *et al.*, 2007a), ofreciendo las predicciones estimadas para cada variante favorable; aunque en otros trabajos, el efecto de dichos marcadores no ha sido contundente (Pannier *et al.*, 2010, Bonilla, 2008, Bonilla *et al.*, 2010; Corva *et al.*, 2007, Allais *et al.*, 2010).

Por otra parte, para la mayoría de los productores de algunos sistemas productores de carne, aún no es claro el porqué de la necesidad de fijar las variantes alélicas favorables en los hatos ganaderos mexicanos ya que las circunstancias actuales de producción, en las que la mayor presión de selección se encuentra dirigida a las características de crecimiento y talla, aún no enfatiza la ponderación sobre las de calidad de producto. Adicionalmente, aún queda por validar la utilidad extensiva de los marcadores sobre estas características de calidad, definir las estrategias de mejoramiento genético en la población y la ganancia económica potencial al fijar sus alelos favorables.

Aunque, los marcadores en el gen de la Calpaína explican hasta el 25% de variación genética en la terneza de la carne (Allan y Smith, 2008) y hasta el 18% de su variabilidad fenotípica (Van Enennaam *et al.*, 2007a); hay evidencia reciente (Allais, *et al.*, 2010) indicando que el efecto de los marcadores genéticos de CAPN no se extiende sostenidamente a todas las razas *Bos taurus* de regiones específicas, por lo que se ha sugerido la búsqueda de marcadores más apropiados.

Por lo tanto, necesariamente habría que evaluar el efecto puntual para casos particulares, así como la ganancia económica que representa la inversión en el uso de estos marcadores, pero qué, sin duda en un contexto en el que la calidad (terneza) sea retribuida si se justificaría plenamente su implementación, apoyando las nuevas oportunidades para vincular la genética y los programas de producción animal a través de la selección asistida por marcadores (SAM) (Gao *et al.*, 2007).

Con respecto al marcador de la Tiroglobulina, TG5, Barendse *et al.* (2004), propusieron que el genotipo 3/3 es favorable para el marmoleo en diferentes poblaciones bovinas. Smith *et al.*, (2000) confirmó la presencia del alelo favorable 3 en alta frecuencia en la raza Wagyu (negro japonés), moderadamente en poblaciones *B. taurus* y en baja frecuencia en *B. indicus*; indicando que este alelo se mantiene fijo o en mayor proporción en algunas razas logrando el incremento en el grado de marmoleo (Casas *et al.*, 2007). Sin embargo, no se descarta la necesidad de corroborar y continuar validando comercialmente este marcador para apoyar el efecto producido por esta variante, ya que su frecuencia y equilibrio genético con otros SNPs polimórficos estrechamente vinculados a éste, depende de la presión de selección ejercida en la población de estudio (Bonilla, 2008; Bonilla *et al.*, 2010; Thompson *et al.*, 2004).

Por su parte, la estimación del efecto de los genotipos analizados sobre las características fenotípicas evaluadas es de mucha relevancia, ya que aunque son pocos los reportes de los marcadores de CAPN1 (316 y 4.751), con relación a algunas características de la canal. El efecto sobre estas características podría depender del

origen genético, de la segregación génica de ambos marcadores en las distintas poblaciones de razas bovinas, de la selección artificial, tamaño de la muestra y otros factores (biológicos, hormonales, enzimáticos), que podrían influir en la terneza de la carne sobre características de la canal (Montgomery *et al.*, 2004; Parra-Bracamonte *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2000). Se debe tomar en consideración la influencia de la actividad de calpaína sobre los diferentes músculos (*Longissimus dorsi*, *Triceps brachi*, *Biceps femoris*, etc.) que ha mostrado variación en el incremento de la terneza de la carne bovina y en otras especies de animales (Gheisari *et al.*, 2007).

En contraste, para el gen TG5, se encontró un valor significativo sobre YG, característica de predicción de la proporción de carne magra. Este hallazgo difiere de lo reportado por Casas *et al.* (2007), quienes no encontraron asociación alguna de TG5 sobre esta característica de rendimiento de carne, así como de otras características de canal en tres poblaciones bovinas (Germplasm Evaluation Project: GPE6, GPE7 y GPE8). El presente resultado puede ser condicionado a la existencia de desequilibrio de ligamiento del SNP analizado con otro locus que funcionalmente este asociado al grado de engrasamiento de la canal (Marques *et al.*, 2009; Parra-Bracamonte *et al.*, 2009).

De manera insistente, es importante considerar la validación comercial de estos tres marcadores moleculares para corroborar dichos efectos, eliminar estimaciones espurias y poder reducir interferencias causadas por un limitado tamaño de muestra, considerando la posible ocurrencia de fases de ligamiento entre los marcadores y las características de interés; así como las interacciones genético-ambiente y sus efectos pleiotrópicos (Thompson, 2004). La búsqueda e identificación puntual de diversos marcadores moleculares ha favorecido a la evolución tecnológica de la biotecnología molecular y la genómica, cuya implementación ha permitido el uso de metodologías para la detección de variantes alélicas de genes candidatos asociados a características poligénicas de interés económico, apreciadas por los consumidores, como la terneza o terneza y el marmoleo de la carne bovina. Extensivamente, en la ganadería

comercial se ha prestado atención a la versatilidad ofrecida por estos métodos de identificación indirecta del mérito genético en características que requieren del sacrificio; similarmente, para la ganadería las técnicas de ultrasonografía de evaluación de características de la canal ofrecen la ventaja de evaluar estas características en animales reproductores evitando su sacrificio (Brannen, 2008). El uso complementario de ambas metodologías podría ayudar a mediano plazo como auxiliares en la selección temprana de sementales dirigidos al mejoramiento genético en hatos comerciales para producción de carne.

Actualmente, la combinación de registros productivos desde pruebas de comportamiento o aquellas rutinariamente completadas que conducen a evaluaciones genéticas y los datos moleculares, han abierto un esquema de comercialización para la ganadería bovina de élite, en la cual la incorporación de los marcadores genéticos ha sido un apoyo para los ganaderos en la toma de decisiones para la selección de los mejores ejemplares bovinos que porten las mejores cualidades para características de calidad (AGCGB, 2006; Smith *et al.*, 2009).

Para el ganado Charolais algunas regiones de México han incluido la estrategia de genotipificación para ofrecer a los ganaderos la posibilidad de identificar la variante Q204X en el gen de la Miostatina, cuya presencia no es valorada positivamente para la ganadería nacional debido a los efectos presumiblemente negativos que ejerce (Parra-Bracamonte *et al.*, 2009). Un fenómeno similar sucede con los marcadores de *CAPNI* y TG5, que reiteradamente han sido reportados en diferentes poblaciones comerciales lo que les ha conferido confianza para su implementación. No obstante, en México, hasta hace poco se ha comprendido la información potencial que proveen estos indicadores genómicos como herramienta de selección y la relevancia de incluir dichos marcadores en las subastas nacionales y regionales, sinérgicamente con criterios tradicionales de análisis por ultrasonido y DEPs (diferencias esperadas en la progenie) y de esta manera incentivar el desarrollo comercial de la ganadería bovina y abrir nuevos nichos de mercado.

En conclusión, el análisis del marcador CAPN4751 demostró un efecto significativo sobre dos características evaluadas (REA e IMF); lo que se sugiere un análisis más amplio con mayor número de muestras para poder corroborar o descartar esta asociación. Por el contrario, el marcador 316 no mostró asociación alguna con las características evaluadas. El marcador TG5 mostró asociación medianamente significativa sobre YG, indirectamente relacionado con el grado de engrasamiento en la canal de los bovinos.

Es imprescindible validar estas asociaciones putativas utilizando técnicas de alto rendimiento que permitan una mayor cobertura del genoma bovino, que facilite el sondeo de una gran cantidad de SNPs para poder complementar con información relevante, incrementando el conocimiento de rol genético y de estos y otros marcadores sobre diversas características cuantitativas.

Agradecimientos

Al apoyo recibido de CONACYT, PIFI-IPN y ECOES-Santander para la formación en posgrado del primer autor. Al proyecto SIP20080448 financiado por el Instituto Politécnico Nacional.

Referencias

- Allais S, Levéziel N, Peyet-Duprat N, Hoquette JF, Lepetit J, Rousset S, Denoyelle C, Brenard-Capel C, Journaux L, Renard G. Effects of polymorphisms in the Calpastatin and μ -Calpain genes on meat tenderness in three French beef breeds. In proceedings of 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leiptzig, Germany 2010; p.3.
- Allan MF, Smith TPL. Present and future applications of DNA technologies to improve beef production. *Meat Sci* 2008; 80:79-85.
- AGCGB. Evalúan terneza y marmoleo en subasta de Cd. Mier, Tamps. *Rev AGCGB* 2006; Primera Parte: 32-34.
- Barendse W. Assessing lipid metabolism. Patent WO9923248. 1999.
- Barendse WJ, Bunch R, Thomas M, Armitage S, Baud S, Donaldson N. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Aust J Exp Agr* 2004; 44:669-674.
- Bergen R, Miller SP, Mandell IB, Robertson WM. Use of live ultrasound, weight and linear measurements to predict carcass composition of young beef bulls. *Can J Anim Sci* 2005; 85:23-35.

- Bonilla CCA. Polimorfismo en los genes CAPN1 y TG5 y su asociación con la calidad de la carne bovina mexicana. Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal. Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. Universitaria, México 2008. p.59.
- Bonilla CA, Rubio MS, Sifuentes AM, Parra-Bracamonte GM, Arellano VW, Méndez MRD, Berruecos JM, Ortiz R. Association of CAPN1 316, CAPN1 4751 and TG5 markers with Mexican bovine meat quality traits. *Gen Mol Res* 2010; 9:2395-2405.
- Brannen CH. Using Live Animal Carcass Ultrasound in Beef Cattle. Extension Animal Scientist-Beef Cattle. The University of Georgia and Ft. Valley State University. Bulletin 1337/ January. 2008. p.4.
- Casas E, Bennet GL, Smith TPL, Cundiff LV. Association of myostatin on early calf mortality, growth and carcass composition traits in crossbreed cattle. *J Anim Sci* 2004; 82:2913-29.
- Casas E, White SN, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M, Bennett GL, Smith TPL. Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *J Anim Sci* 2007; 85:2807-2814.
- CONARGEN. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. México. 2001. p.42.
- Corva P, Soria L, Papaleo MJ, Villarreal EA, Melucci L, Mezzadra C, Schor A, Motter M. Evaluación de marcadores moleculares asociados a diferencias en terneza de la carne de novillos Brangus. XX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XXX Reunión de la Asociación Peruana de Producción Animal. Cusco, Perú 2007; 1-5.
- Dekkers JCM, Hospital F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nat Rev Gen* 2002; 3:22-32.
- Franke DR, Bidner TD, Persica MAIII, Smith T, Domingue JD. Calpastatin and calpain genetic marker influence. *Louisiana Agriculture* 2008; 51:6-9.
- Gao YU, Zhang R, Hu X, Li N. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat Sci.* 2007; 77:36-45.
- Garrett WN, Hinman N. Fat content of trimmed beef muscles as influenced by quality grade, yield grade, marbling score and sex. *J Anim Sci* 1971; 33:948-957.
- Gheisari HR, Shekarforoush SS, Aminlari M. Comparative studies on calpain activity of different muscles of cattle, camel, sheep and goat. *Iranian J Vet Res Uni Shiraz* 2007; 8:225-230.
- Hocquette JF, Gigli S. Indicators of milk and beef quality. *In: European Association for Animal Production (EAAP) publication No. 112; 2005. p.457.*
- International Committee for Animal Recording (ICAR). International agreement of recording practices. Sousse Tunisia; 2005. p.291.
- Marques E, Nkrumah JD, Sherman EL, Moore SS. Polymorphisms in positional candidate genes on BTA14 and BTA26 affect carcass quality in beef cattle. *J Anim Sci* 2009; 87:2475-2484.
- McPherson M, Moller S. PCR the basics from background to bench. Springer-Verlag New York; 2000.
- McPherson M, Moller S. Optimization of PCR. *In: PCR. 2nd ed. New York (US): T&F inform; 2006. p.65-85.*
- Montgomery JL, Blanton JR, Horst RL Jr, Galyean ML, Morrow KJ, Wester DB Jr, Miller MF. Effects of biological type of beef steers on vitamin D, calcium, and phosphorus status. *J Anim Sci* 2004; 82:2043-2049.
- Page BT, Casas E, Quaas RL, Thallman RM, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, White SN, Bennett GL, Keele JW, Dikeman ME, Smith TPL. Association of markers in the bovine *CAPN1* gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J Anim Sci* 2004; 82:3474-3481.
- Palmer M. WatCut: An on-line tool for restriction analysis, silent mutation scanning, and SNP-RFLP analysis. University of Waterloo, 2007; [Fecha de acceso: 12 febrero de 2010]. URL: <http://watcut.uwaterloo.ca/watcut/watcut/template.php.2007>.
- Pannier L, Mullen AM, Hamill RM, Stapleton PC, Sweeney T. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Meat Sci.* 2010; 85:515-518.
- Parnell PF. Industry application of marbling genetics: a brief review. *Aust J Exp Agr* 2004; 44:697-703.
- Parra-Bracamonte GM, Sifuentes-Rincón AM, Cienfuegos-Rivas EG, Tewolde-Medhin A, Martínez-González JC. Polimorfismo en el gen de la μ -calpaína en ganado Brahman de registro de México. *Arch Latinoam Prod Anim* 2007; 15:33-38.
- Parra-Bracamonte GM, Sifuentes-Rincón AM, Arellano-Vera W, Almanza-González A, De la Rosa-Reyna XF. Tipificación de tres marcadores genéticos de caracteres de importancia comercial en ganado Charolais: implicaciones en la ganadería para carne en México. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2009; 22:257-266.
- Rousset F. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Res* 2008; 103-106.
- SAS. 2001. SAS/STAT User's Guide (Release 8.20). Cary, NC, USA. SAS Inst. Inc.
- Smith TPL, Casas E, Rexroad III CE, Kappes SM, Keele JW. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *J Anim Sci* 2000; 78:2589-2594.
- Smith T, Thomas MG, Bidner TD, Paschal JC, Franke DE. Single nucleotide polymorphisms in Brahman steers and their association with carcass and tenderness traits. *Gen Mol Res* 2009; 8:39-46.

- Thallman RM. DNA Testing and marker assisted selection. Meat Animal Research Center, ARS-USDA, Clay Center, NE 68933. p.20-25.
- Thompson JM. The effects of marbling on flavor and juiciness scores of cooked beef after adjusting to a constant tenderness. Aust J Exp Agr 2004; 44:645-652.
- USDA. 2005. Procedures for approval and use of vision based instrument system for beef carcass yield grade measurement. Livestock and Seed Program, Agricultural Marketing System. March. 6 p.
- Van Eenennaam AL, LI J, Thallman RM, Quaas RL, Dikeman ME, Gill CA, Franke DE, Thomas MG. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. J Anim Sci. 2007a; 85:891-900.
- Van Eenennaam AL, Weaber RL, Drake DJ, Penedo MCT, Quaas RL, Garrick DJ, Pollak EJ. DNA-based paternity analysis and genetic evaluation in a large, commercial cattle ranch setting. J Anim Sci 2007b; 85:3159-3169.
- White SN, Casas E, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, Riley DG, Chase CCJr, Johnson DD, Keele JW, Smith TPL. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. J Anim Sci 2005; 83:2001-2008.
- Wilson DE. Application of ultrasound for genetic improvement. J Anim Sci 1992; 70:973-983.