



por Dr. HORACIO GUITOU, Unidad de Genética Animal
 Instituto de Genética del INTA - Castelar
 Dr. PATRICIO HERRMANN, Laboratorio AgroCiencia

Marcadores Moleculares de Terneza:

CALPAÍNA Y CALPASTATINA

Una nueva herramienta para el mejoramiento genético de los rodeos bovinos de carne.



La calidad de la carne bovina constituye un importante factor de interés económico. Entre todos los atributos que contribuyen a la calidad, se ha comprobado que la terneza es el más apreciado por los consumidores.

A diferencia de otras características detectables en el animal vivo, la terneza no es verificable hasta después de la faena. Una vez muerto el animal, existen dos formas de detectar terneza: una, por estudios subjetivos con "paneles de expertos en degustación", y la otra, mediante la medición objetiva de la "resistencia al corte" por el método de Warner-Bratzler" (WBSF), que utiliza una guillotina calibrada.

Ambos métodos no han resultado herramientas útiles o prácticas para la selección de reproductores por terneza, pues nadie desea matar al potencial reproductor, lo cual nos lleva a faenar sus novillos. Estas pruebas de progenie, que nos llevarían 4 ó 5 años, son costosas en tiempo y dinero. Más aún, el número de reproductores que se podrían evaluar anualmente es muy limitado. Consecuentemente, estos dos últimos métodos mencionados previamente no se aplican actualmente desde el punto de vista de generar datos para los Resúmenes de Padres. Los estudios de ADN para detectar la presencia de marcadores moleculares asociados a terneza tienden a buscar otras soluciones a este problema. En este sentido, la Asociación Argentina de AnGus ha iniciado estudios de su población, obteniendo las frecuencias genotípicas y génicas de cuatro marcadores moleculares asociados a terneza, los que están valida-

dos por el National Beef Cattle Evaluation Consortium (NBCEC - www.nbcec.org).

Marcadores moleculares

Se denomina marcador molecular a mutaciones o variantes genéticas (SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms) en los individuos que se pueden asociar a determinadas características de interés económico.

Numerosos trabajos científicos han demostrado que el tiernizado post-mortem de la carne en las subespecies *Bos taurus* y *Bos indicus* se debe, principalmente, a la existencia de dos enzimas, la calpaína y la calpastatina, que actuando en forma coordinada degradan las proteínas de los músculos, disminuyendo el rigor mortis que se produce luego de la faena.

Validación científica

En el año 2007, el National Beef Cattle Evaluation Consortium (www.nbcec.org), de Estados Unidos, realizó un trabajo de validación, que incluyó más de 1300 animales de diferentes razas, en el que se demostró que existe una relación "altamente significativa" ($P < 0,001$) entre los marcadores moleculares y la terneza de la carne, medida mediante el método de Warner-Bratzler.

En los últimos años, científicos de Estados Unidos y Australia han identificado, en los genes de las enzimas calpaína y calpastatina, mutaciones o variantes genéticas (SNPs) asociadas a mayor y a menor terneza.

Dichas mutaciones se denominan marcadores moleculares de ternera. Los marcadores que más se utilizan en la actualidad son: calpastatina₂₉₅₉, calpastatina_{UoG}, calpaína₃₁₆ y calpaína₄₇₅₁, en donde los subíndices identifican la posición de cada mutación en el gen respectivo.

Para cada marcador se ha encontrado una variante más favorable a la ternera (+) y una menos favorable (-). Al tener los bovinos dos alelos de cada gen, uno proveniente del padre y otro de la madre, para un animal hay entonces tres genotipos posibles para cada marcador.

Genotipo óptimo:

[++] = Homocigota mayor ternera (++) . El animal posee dos alelos con la variante más favorable del gen.

Otros genotipos:

[+-] = Heterocigota (+-) . El animal posee un solo alelo de la variante más favorable del gen.

[--] = Homocigota menor ternera (--) . El animal no posee ningún alelo de la variante más favorable del gen.

Para cuatro marcadores, el animal con el genotipo más favorable a la ternera es ocho alelos favorables (++ ++ ++ ++)

calpastatina₂₉₅₉ [++] / calpastatina_{UoG} [++] / calpaína₃₁₆ [++] / calpaína₄₇₅₁ [++]

y el animal con el genotipo menos favorable es (-- -- -- --)

calpastatina₂₉₅₉ [--] / calpastatina_{UoG} [--] / calpaína₃₁₆ [--] / calpaína₄₇₅₁ [--]

Dado que la capacidad de predecir ternera de los cuatro marcadores es aditiva, a mayor cantidad de las variantes más favorables, mayor probabilidad de obtener individuos con carne tierna.

Los marcadores de ternera se transmiten en forma mendeliana directa. Por lo tanto, los individuos homocigotas [++] para un marcador, transmiten al 100% de su descendencia la variante alélica (+), mientras que los heterocigotas [+0] transmiten al 50% de sus hijos la variante alélica (+) y al otro 50% la variante alélica no favorable (-).

Diferencias objetivas en la ternera

Entre los individuos con los genotipos más y menos favorables (8 positivos versus 8 negativos), existe una diferencia en la ternera de más de 1,4 kilos (30%), medida con el método de Warner-Bratzler a los 14 días post faena, de acuerdo con la validación del National Beef Cattle Evaluation Consortium (www.nbcec.org) realizada en Estados Unidos (Journal of Animal Science, mayo 2007).

Selección de reproductores por ternera

Desde 1989, la Asociación Argentina de AnGus lleva adelante el Programa ERA (Evaluación de Reproductores AnGus), basado en medidas objetivas sobre características asociadas a la eficiencia reproductiva, la precocidad de crecimiento y el rendimiento y calidad de la carne. En el marco del ERA, actualmente se analizan doce características cuantitativas de interés económico haciendo uso del Modelo Animal, el cual permite obtener evaluaciones objetivas en base a DEP (Diferencias Esperadas entre Progenies), con propiedades estadísticas denominadas BLUP (Best Linear Unbiased Prediction).

Sin embargo, con el objetivo de evaluar la posibilidad de agregar al ERA otra característica muy relevante en lo que respecta a calidad de carne, como lo es su ternera, se realizó el presente trabajo tendiente a medir las frecuencias génicas de las variantes alélicas favorables y no favorables de los marcadores calpaína₃₁₆, calpaína₄₇₅₁, calpastatina₂₉₅₉ y calpastatina_{UoG} en la población AnGus de la Argentina, ya que todo plan de Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM) debe iniciarse con el conocimiento de las frecuencias génicas de las que se parte, dado que el mejoramiento animal se basa en aumentar la frecuencia génica de los alelos favorables en la población.

En el año 2005, la Asociación Argentina de AnGus inició los trabajos con el Dr. Horacio Guitou (Unidad de Genética Animal del Instituto de Genética del INTA – Castelar), con el Dr. Alejandro Schijman (Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular -INGEBI- del CONICET) y con el Dr. Patricio Herrmann (Laboratorio de Biología Molecular de AgroCiencia) para el desarrollo de los análisis de ADN que detectan la presencia o ausencia de los marcadores moleculares asociados a la ternera de la carne vacuna, a través de pelo, sangre o semen.

Los trabajos realizados desde entonces han permitido incluir en el ERA los genotipos de los reproductores estudiados, a los fines de identificar los reproductores que aportan o no a los rodeos, genes favorables asociados a la ternera.

El acceso a estos análisis provee a los criadores de una herramienta que proporciona criterios de selección objetivos, sin tener que esperar a la faena del animal o de su descendencia. Este sistema de selección se denomina Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM). Ejemplo de la forma en que se incorpora la información de los genes de ternera en el Resumen de Padres AnGus.



Frecuencias génicas y genotípicas de los marcadores de ternera en la raza AnGus de la Argentina

En el año 2008 se publicaron en el Resumen de Padres AnGus las frecuencias génicas y genotípicas de los mar-

En la Tabla I se observan las frecuencias génicas y genotípicas obtenidas, explicitando las variantes más (+) y menos (-) favorables asociadas a ternera, para cada uno de los marcadores moleculares estudiados.

Cabe destacar la alta frecuencia génica ($f=0,916$) de la mutación o variante favorable (+) encontrada en calpastatina₂₉₅₉ en la raza AnGus de la Argentina. A su vez, las muy buenas frecuencias génicas de la variante favorable (+) de la calpaína₄₇₅₁ ($f=0,728$) y de la calpastatina_{UoG} ($f=0,800$), más la aceptable –pero mejorable– frecuencia génica ($f=0,294$) de la variante favorable (+) de calpaína_{316g}. Todo esto nos brinda nuevas expectativas y herramientas para trabajar con SAM en ternera.

Discusión

El número de reproductores estudiados ($n=303$) y el tipo de muestreo realizado permiten obtener importantes conclusiones sobre las frecuencias génicas y genotípicas en la población de animales AnGus de pedigree de la Argentina. Hasta el presente, en la bibliografía internacional no existen datos de frecuencias génicas y genotípicas poblacionales, sino sólo datos de frecuencias obtenidos en rodeos de referencia constituidos para diversos fines.

Las frecuencias génicas obtenidas en la raza AnGus, en el presente trabajo, se comparan en la Tabla II con las frecuencias génicas esperadas para rodeos Bos taurus pu-

bladas en la bibliografía internacional. Para el marcador calpastatina₂₉₅₉, calpaína₃₁₆ y calpaína₄₇₅₁ en más de 300 reproductores de pedigree que mejor representan el patrimonio genético de la raza en la Argentina.

Posteriormente se desarrolló el análisis para detectar la presencia de la mutación calpastatina_{UoG}, descubierta por investigadores de

la Universidad de Guelph (Ontario, Canadá), por lo que en el año 2009 se procesaron dichos animales para determinar la frecuencia de este marcador.

A continuación presentamos los resultados de las frecuencias obtenidas para los citados cuatro marcadores.

Tabla I: Frecuencias génicas y genotípicas para cada marcador.

Genotipo	Calpastatina ₂₉₅₉		Calpastatina _{UoG}		Calpaína ₃₁₆		Calpaína ₄₇₅₁	
	Nº de animales	%	Nº de animales	%	Nº de animales	%	Nº de animales	%
[++]	257	84,0%	186	63,1%	37	12,1%	156	52,1%
[+-]	47	15,4%	100	33,9%	103	34,3%	125	41,3%
[--]	2	0,7%	9	3,1%	164	53,6%	20	6,6%
Total	306	100,0%	295	100,0%	306	100,0%	303	100,0%
% Variante (+)	91,6% ($f=0,916$)		80,0% ($f=0,800$)		29,2% ($f=0,292$)		72,8% ($f=0,728$)	
% Variante (-)	8,4%		20,0%		70,8%		27,2%	

Tabla II: Frecuencias génicas para las variantes de mayor ternera (+) de cada marcador estudiado, en la raza AnGus en la Argentina.

Marcador de Ternera	Frecuencia génica (%) obtenida	Frecuencia génica esperada para Bos taurus
Calpastatina ₂₉₅₉	91,6%	80,0% – 94,0%
Calpastatina _{UoG}	80,0%	60,0% – 80,0%
Calpaína ₃₁₆	29,2%	20,0% – 25,0%
Calpaína ₄₇₅₁	72,8%	45,0% – 65,0%

bladas en la bibliografía internacional. Para el marcador calpastatina₂₉₅₉, la frecuencia génica obtenida del alelo favorable ($f=0,916$) se correlaciona muy bien con las frecuencias génicas publicadas en la bibliografía (f entre 0,80 y 0,94). En cambio, la frecuencia obtenida para el mar-

cador calpastatina₂₉₅₉ ($f=0,800$) se encuentra en el rango más alto de lo esperado, mientras que para los marcadores calpaína₃₁₆ ($f=0,294$) y calpaína₄₇₅₁ ($f=0,728$), la frecuencia obtenida es algo mayor que la encontrada en la bibliografía.

Dado que ya existe información confiable, generada en el país y en el extranjero, sobre la utilidad de los tests para ternera con marcadores moleculares, la información sobre las frecuencias génicas relativas de las diferentes variantes de cada marcador en nuestra población Angus es el primer paso de cualquier planteo de mejoramiento genético. Además, el presente trabajo nos permitió decidir la incorporación de la información en los reproductores estudiados, de los cuatro marcadores moleculares de ternera, en nuestro Resumen de Padres Angus.

Este trabajo muestra cómo cada reproductor puede ser evaluado actualmente con “cuatro marcadores moleculares” asociados a ternera, explicitando para cada uno la presencia o ausencia de la variante más favorable de cada marcador, pudiéndose, de esta forma, hacer uso de esta

información en trabajos de SAM para una característica tan reconocida como la mencionada.

Es importante destacar que el uso de la SAM es más relevante en las características económicas que tienen baja heredabilidad, son de difícil medición o se miden tardíamente (faena - pruebas de progenie) en los controles de producción. Para otras características, como el % de grasa intramuscular, el poder medir directamente el fenotipo por ecografía disminuye la importancia de los marcadores moleculares de vetado o “marbling” (% grasa intramuscular).

Cabe resaltar que los marcadores moleculares indican una asociación con la característica de interés económico analizada, pero no explican el 100% de la varianza genética aditiva, sino el 20% de la misma. Sin embargo, cuando se carece de la posibilidad de la medición directa de cualquier característica de importancia económica, los marcadores moleculares validados se tornan de mayor relevancia. Este es el caso de la ternera. ::

