



4. ÁREA PRODUCCIÓN ANIMAL

METODOLOGÍAS BASADAS EN PCR-RFLP DE CALPAÍNA Y CALPASTATINA PARA SELECCIÓN DE BOVINOS BRAHMAN Y BRAFORD EN EL NORESTE ARGENTINO

JARA, Leandro³; JASTRZEBSKI, Fernando³; DE BIASIO, María²; OBREGÓN, Gladis²; SANDOVAL, Gladis¹

¹Prof. Titular, ²Aux. Docente, ³Ay. Alumnos, Cát. De Bioquímica, Fac. De Cs. Veterinarias, UNNE. Sgto. Cabral 2139, 3400, Corrientes (Capital), Argentina. TE: 03794-44231702-Int.184.

E-mail: glsandoval@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los hábitos de consumo de carnes rojas a nivel mundial abarcan diferentes criterios en cuanto a las características deseables; la preferencia por la ternura es consistente y reconocida en todos los ámbitos de producción y comercialización (8). El método objetivo más usado para determinarla es la Cizalla Warner-Bratzler (CWB), que tiene buena correlación con otros métodos como los paneles de degustación (9). La selección asistida por marcadores moleculares tiene ventaja al poder mejorar la precisión y progreso de los programas en tiempo real. Los genes para ternura más estudiados son los de calpaínas (CAPN) y calpastatinas (CAST), incluyendo el análisis de sus polimorfismos (1). Las actividades de CAPN y CAST *in vivo* son buenas predictoras de la actividad *post mortem* y correlacionan con los valores de la CWB (11). Además, el sistema CAPN-CAST es importante en el crecimiento del músculo esquelético normal (3). La velocidad y el grado de crecimiento muscular dependen principalmente de las tasas de síntesis y degradación proteína y del número y tamaño de las células. Algunos sugieren que las CAPN son responsables del 95% de la proteólisis inicial. Las CAST son los moduladores enzimáticos de CAPN y son degradadas por ellas en el músculo *post mortem*, jugando un rol muy importante en la ternura de la carne (7).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la existencia de cualquier forma y grado de asociación del genotipo de CAPN y CAST sobre el peso corporal y algunas variables morfométricas de bovinos de establecimientos de la zona NEA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectó sangre con anticoagulante de ejemplares machos Brahman y sus cruza con Hereford en tres establecimientos de Chaco (Cha) y uno de Corrientes (Corr). En Cha eran bovinos 3/8 (n= 52) y, en (Corr), 1/2, 3/4, 7/8 Braford y Brahman puros (n=30). Sobre cada animal, se midieron: peso vivo corporal (PC, en Kg), altura a la cadera (Cad, en cm) y perímetro torácico (PTorax, en cm).

Se extrajo ADN genómico de las muestras de sangre con Bromuro de cetil-trimetil amonio. Para la genotipificación, se analizó en cada muestra (mediante PCR-RFLP) un polimorfismo en el gen para calpaína (CAPN) y dos en el de calpastatina (CAST-S y CAST-C), amplificando regiones que contienen los polimorfismos de interés, seguido de digestión con enzimas de restricción para conocer el estado de homo o heterocigosis. Para CAPN2, se obtuvo un fragmento de 1800pb, que fue digerido por la enzima HhaI (6). Para CAST-S (5) se produjo un fragmento de 624pb, que se sometió a restricción con la enzima Alu I (GenBank AF117813). Para la PCR-RFLP de CAST-C (2), se obtuvo un amplicón de 269 pb, sometiendo a restricción con Dde I (GenBank AF159246). En todos los casos, la verificación de la amplificación y los productos resultantes de su restricción se analizaron por electroforesis y transiluminación UV de geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio.

RESULTADOS

Los resultados morfométricos (promedio y error estándar) y la frecuencia proporcional promedio (%) para los alelos tiernos de cada marcador molecular se observan en la tabla.

PROVINCIA	CAPNt (%)	CAST-St (%)	CAST-Ct (%)	PC (kg)	Cad (cm)	PTorax(cm)
Chaco	39	59	64	606±14	140±1	209±2
Corrientes	12	68	72	490±18	141±1	192±3

Hubo diferencia significativa para las frecuencias de alelos "tiernos" de CAPN (CAPNt) entre Cha y Corr ($p < 0,001$), pero no para CAST-S ni CAST-C. Se asociaron positivamente el grado de cruzamiento Brahman x Hereford y la proporción de alelos tiernos de CAPN ($p < 0,05$), no ocurriendo lo mismo con ambos polimorfismos de CAST, los cuales se mostraron altamente correlacionados entre sí (CAST-S vs CAST-C, $p < 0,001$). Sólo existió una tendencia ($p = 0,08$) de asociación entre edad y PC, ya que los bovinos con mayor sangre cebú de Corr tardaron más (4,4 años) en alcanzar mayores pesos; mientras que, en Cha, animales más jóvenes (2,8 años) pesaron más. Considerando la edad como covariable, el PC estuvo asociado con ambas mediciones morfométricas ($p < 0,001$), las que estaban estrechamente asociadas ($p < 0,01$). Con el mismo análisis, la proporción de alelos "tiernos" CAPN mostró relación positiva con PC y con Ptorax ($p < 0,001$); y negativa con Cad.

DISCUSIÓN

La relación hallada entre la frecuencia de CAPNt respecto a la proporción de sangre cebú es coincidente con lo reportado por Guidobaldi et al. (2007), discrepando con dicho autor respecto a CAST-S y CAST-C con las que no ocurrió lo mismo en la población bajo estudio. La relación de CAPN "tierna" con PC hallada no se pudo verificar en otros rumiantes (10).

CONCLUSIÓN

La frecuencia proporcional de CAPNt estuvo acorde al cruzamiento de los bovinos muestreados y al peso corporal. Tanto CAST-S como CAST-C resultaron igualmente aptas para determinar el genotipo de calpastatina.

BIBLIOGRAFÍA

- Casas et al., 2000 Casas E, White SN, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, Riley DG, Chase Jr CC, Johnson DD and Smith. TPL. 2006. Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J Anim Sci.* 84:520-525.
- Curi R.A., Loyola Chardulo L.A., Silveira A.C. & Nunes de Oliveira H. Alternative genotyping method for the single nucleotide polymorphism A2959G (AF159246) of the bovine CAST gene. *Pesq. Agropec. Bras., Brasilia*, 43(5): 657-659, 2008.

- Edyta Z.K., S. J. Rosochacki, & K. Wicinska. 2002. A note on restriction fragment length polymorphism for Hhal in the bovine calpain gene. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 20: 181-185.
- Guidobaldi F.; Zbrun M.V.; Vanzetti L.S. y N. Latimori. Variabilidad genética de CAPN2 y CAST involucrados en la terneza de la carne en bovinos con diferente composición genética de *Bos Taurus* y *Bos Indicus*. 36° Congreso argentino de genética. Pergamino, Buenos Aires, Argentina; Año: 2007.
- Juszczuk-Kubiak, E., Rosochacki, S.J.; Wicińska K., Szreder T., Sakowski T. A novel RFLP/AluI polymorphism of the bovine calpastatin (CAST) gene and its association with selected traits of beef. *Animal Science Papers and Reports, Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzębiec, Poland* 22, 2: 195-204, 2004.
- Lara, M.A.C., R. F. Nardon, G. Bufarah, J. J. A. A. Demarchi, J. R. Sereno, S. A. Santos y U.G. P. Abreu. "Polimorfismo del gen Calpaína en razas vacunas por la técnica PCR-RFLP". *Arch. Zootec.* 54:305-310, 2005.
- Martínez González J.C.; Parra Bracamontes G.M. "Mejoramiento genético del ganado Brahman en México". [En línea] *TURevistaDigi.U@T* Febrero 2008. Vol. 2 Núm. 4 www.turevista.uat.edu.mx
- Motter, MM; Corva, P.; Krause, M; Pérez Cenci, M; Soria, L. Rol de la calpastatina en la variabilidad de la terneza de la carne bovina. *Journ. of Basic and Applied Genetics*, 20,1:15-24, 2009.
- Peluffo Frisch M y Monteiro Rodríguez M. Artículo Técnico, IPCVA. 2002. Disponible en: <http://www.ipcva.com.ar/ver-text.php?id=125>
- Sutiknoa, Yaminc M. & Sumantric C. Association of Polymorphisms Calpastatin Gene with Body Weight of Local Sheep in Jonggol, Indonesia. *Media Peternakan*, April 2011, hlm. 1-6 - EISSN 2087-4634. Terakreditasi B SK Dikti No: 43/DIKTI/Kep/2008 Versi on line: <http://medpet.journal.ipb.ac.id/DOI: 10.5398/medpet.2011.34.1.1>
- Woodward, B.W., De Nise, S.K. and J.A. Marchello. 2000. Evaluation of calpastatin activity measures in ante- and postmortem muscle from half-sib bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 78:804.