

## Caracteres de crecimiento y de la canal de novillos en engorde en pastoreo que discriminan genotipos del marcador CAPN1 316

### Growth and carcass traits of steers on pasture discriminating genotypes of CAPN1 316 marker.

Miquel, M<sup>1</sup>; Villarreal, E<sup>2</sup>; Mezzadra, C<sup>2</sup>; Melucci, L<sup>3</sup>; Soria L<sup>1</sup>; Corva, P<sup>3</sup>; Schor, A<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Area Genética, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina. mcmiquel@fvvet.uba.ar

<sup>2</sup> Estación Experimental Balcarce, INTA, Argentina.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

<sup>4</sup> Laboratorio de Tecnología de Carnes, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

#### Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de un marcador molecular sobre caracteres relacionados con calidad de la canal y el crecimiento de bovinos en engorde a pastoreo. Se utilizaron 59 novillos Brangus y 20 Angus. Se determinaron genotipos del CAPN1 316 y se realizó un análisis multivariado, utilizando como variables dependientes la resistencia al corte (RC), el peso a la faena (PF), la ganancia diaria de peso vivo (GDPV), el espesor de grasa dorsal subcutánea (EGD), la tasa mensual de engrasamiento (TE), el área del ojo del bife (AOB), la profundidad del bife (PROF) y la resistencia al corte (RC). Además de RC, otros caracteres como PF y GDPV diferencian los genotipos del marcador CAPN1 316.

**Palabras clave:** marcador molecular, calidad de carne, crecimiento, análisis multivariado.

#### Abstract

The objective of this paper was to determine the effect of a molecular marker on traits associated to meat quality and growth of cattle fattened on pasture. Fifty nine Brangus and 20 Angus steers were used. Genotypes of a SNP in the  $\mu$ -calpain gene at position 316 (CAPN1 316) were determined. Steers were monthly weighted and rib eye area, rib depth, fat thickness at 12<sup>th</sup>-13<sup>th</sup> rib ultrasonically measured. At slaughter, after a 7 days maturing period, tenderness was evaluated (Warner Bratzler shear force) on the *longissimus* muscle. A multivariate analysis of variance was done including shear force, final weight, average daily gain, fat thickness, average monthly fat thickness gain, rib eye area and rib depth as dependent variables. Shear force, final weight and average daily gain differentiate genotypes of the CAPN1 316 marker.

**Key words:** molecular marker, meat quality, growth, multivariate analysis

#### Introducción

En los últimos años, se ha avanzado en la identificación de genes que determinan caracteres de producción. La calidad de la carne está determinada por un conjunto de caracteres que son difíciles de evaluar en el animal vivo, de allí que contar con marcadores moleculares para ellos constituiría una gran ayuda para la selección. Una parte importante de la investigación en genética molecular ha estado dirigida a la identificación de genes que podrían afectarla y la terneza ha recibido particular atención. En los bovinos, uno de los genes estudiados es el gen CAPN1 que codifica la unidad grande de la  $\mu$ - calpaína, el cual, se cree, es uno de los responsables por la tiernización post-mortem (Koochmaraie, 1996). Page *et al.*, 2002, encontraron SNP's (Single Nucleotide Polymorphisms) en este gen por secuenciación que resultaron estar asociados con terneza (Page *et al.*, 2004). En condiciones de pastoreo, Soria *et al.* (2006), encontraron que de 3 polimorfismos estudiados, el que se encuentra en la posición 316 (CAPN1 316), tiene efectos sobre la terneza.

A su vez, existen correlaciones entre los caracteres de crecimiento y los de la canal (Marshall, 1999). Los animales de diferentes características de crecimiento, producen canales con diferencias en su composición y calidad, de modo que es esperable que un marcador asociado con un determinado carácter, también se encuentre asociado con otros caracteres.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de un marcador molecular sobre caracteres relacionados con calidad de la canal y el crecimiento de bovinos en engorde a pastoreo.

## Materiales y Métodos

### Animales

Se utilizaron novillos Brangus (n = 59) y Angus (n = 20). Los Angus procedieron de 2 orígenes: rodeo experimental de INTA Balcarce e hijos de las mismas madres pero apareadas con padres comerciales de similar frame (1-2); los Brangus de tres rodeos comerciales de las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Chaco. Los Angus fueron elegidos por conveniencia para el experimento que se realizó, ya que su menor frame respecto al de los Brangus generaría variabilidad en los caracteres a analizar, pero, por lo tanto, no pueden considerarse representativos de la raza.

Se comenzó el engorde de animales de aproximadamente 8-10 meses de edad sobre pasturas polifíticas en el mes de abril de 2004 y se finalizó en junio de 2005. Mensualmente, los novillos se pesaron y se midieron por ultrasonido a la altura de las 12ª y 13ª costillas: espesor de grasa dorsal, área del ojo del bife, profundidad (diámetro menor) del mismo. Fueron sacrificados, por conveniencia de los propietarios de los novillos, cuando el grupo de animales provenientes de un establecimiento llegó a promediar 6 mm de grasa dorsal.

### Análisis molecular

El ADN se extrajo de 500 µl de sangre con fenol/cloroformo y precipitación por etanol y resuspensión en Tris HCL 10 mM.

El CAPN1 316 es un polimorfismo citosina/guanina (C/G) situado en el exon 9 de este gen (Page et al., 2002). Los primers fueron seleccionados a partir de la secuencia del CAPN1 (GenBank AF252504 y AF248054). La metodología utilizada está descrita en Corva *et al.* (2007).

### Resistencia al corte

El análisis de resistencia al corte (RC) se realizó en el laboratorio de carnes de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Los animales fueron sacrificados en una planta comercial tras un descanso de 24 hs en corrales con acceso a agua. Se extrajo el block de bifes correspondiente a las costillas 11ª, 12ª y 13ª de cada media res izquierda, se dehuesó y se dividió en tres porciones; aleatoriamente se eligió una de ellas y se la sometió a maduración durante 7 días a 2°C y luego se congeló a -18°C hasta su procesamiento. Los bifes se descongelaron (4°C, 24 hs). La terneza se determinó con cizalla de Warner-Bratzler, que mide la RC, sobre carne enfriada por 40' tras cocción en baño de agua a 70°C de temperatura interna.

### Análisis estadístico

La información se analizó mediante un análisis multivariado, utilizando como variables dependientes el peso a la faena (PF), la ganancia diaria de peso vivo (GDPV, kg/d), el espesor de grasa dorsal subcutánea (EGD, mm), la tasa mensual de engrasamiento (TE, mm/mes) o de deposición de EGD durante el engorde, el área del ojo del bife (AOB), la profundidad del bife (PROF) y la RC. Para el análisis, se formaron 5 grupos con las 2 razas y sus diferentes orígenes (2 orígenes de Angus y 3 de Brangus). Como efectos fijos se utilizaron la clasificación de origen-raza (grupo) y el genotipo del CAPN1 316.

El Cuadro 1 muestra la distribución de los novillos por grupo y por genotipo de CAPN1 316.

Cuadro 1. Distribución de animales por grupo y por genotipo

Genotipo/Grupo	Angus 1	Angus 2	Brangus 1	Brangus 2	Brangus 3	Total	Porcentaje
CC	1	1	0	2	0	4	5.0
CG	3	7	9	6	6	31	39.2
GG	6	2	11	12	13	44	55.7

\*C: citosina; G: guanina

Del cuadro se desprende que el genotipo CC se encuentra en baja frecuencia y que los genotipos se encuentran en similares proporciones en cada grupo. En caso de encontrar diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre genotipos para el conjunto de variables analizadas, la inspección subjetiva de los vectores característicos permite detectar los caracteres con mayor influencia en esa diferenciación. Como las variables dependientes tienen diferentes unidades, se calcularon sus correlaciones con las variables canónicas para utilizarlas con ese fin. Otras estadísticas obtenidas fueron los promedios de las variables canónicas de cada genotipo CAPN1 316 multiplicando los vectores por los promedios de mínimos cuadrados correspondientes. Para todos los análisis se utilizó el SAS (1998)

## Resultados y Discusión

Los resultados del análisis multivariado indicaron que existen diferencias en las variables para efecto de genotipos y de grupos, de acuerdo al Test de Hotelling-Lawley ( $P < .05$ ). En los análisis univariados, el efecto de grupos resultó significativo ( $P < .05$ ) para todas las variables y el de genotipo lo fue para: terneza, ganancia de peso y peso final ( $P < .05$ ).

Los promedios de mínimos cuadrados de los tres genotipos de CAPN1 316 con sus errores estándar para todas las variables figuran en el Cuadro 2. Para los caracteres en los que hubo diferencias entre genotipos, el CC no fue diferente del CG, pero los promedios de ambos fueron inferiores al GG ( $P < .05$ ). La falta de diferencias significativas entre CC y CG puede deberse a los elevados errores estándar del CC causados por el bajo número de animales con este genotipo.

Los vectores característicos 1 y 2 figuran en el Cuadro 3, así como el valor de sus raíces características y las correlaciones entre las variables canónicas y los caracteres.

Cuadro 2. Promedios de mínimos cuadrados, desviaciones estándar por genotipo de CAPN1 316

Carácter	CC n = 4	CG n = 31	GG n = 44
RC (kg)	4.41 <sup>a</sup> ± 0.57	5.58 <sup>a</sup> ± 0.20	6.29 <sup>b</sup> ± 0.18
EGD (mm)	5.86 ± 0.54	6.04 ± 0.19	5.98 ± 0.17
AOB (cm <sup>2</sup> )	47.13 ± 3.76	51.86 ± 1.34	50.81 ± 1.19
PROF (cm)	5.01 ± 0.28	5.64 ± 0.10	5.65 ± 0.09
TE (mm/mes)	0.345 ± 0.057	0.365 ± 0.020	0.366 ± 0.018
GDPV (kg/d)	0.675 ± 0.046 <sup>a</sup>	0.705 ± 0.016 <sup>a</sup>	0.765 ± 0.014 <sup>b</sup>
PF (kg)	360.23 ± 14.71 <sup>a</sup>	381.34 ± 5.26 <sup>a</sup>	399.23 ± 4.68 <sup>b</sup>

RC: resistencia al corte; EGD: espesor de grasa dorsal; AOB: área del ojo del bife; PROF: profundidad; TE: tasa de engrasamiento; GDPV: ganancia de peso diaria; PF: peso final

<sup>a</sup> <sup>b</sup> Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < .05$ ) en los análisis univariados.

Cuadro 3. Raíces, vectores característicos y correlaciones entre las variables canónicas y los caracteres

	RC	EGD	AOB	PROF	TE	GDPV	PF	Raíz (%)
Vector 1	0.0825	0.0059	-0.0044	0.0142	-0.4223	0.4733	0.0029	0.55(89)
Correlación	0.63	0.02	0.33	0.45	0	0.68	0.79	
Vector 2	0.0199	-0.0344	0.0195	0.0989	0.0864	-0.0777	-2x10 <sup>-4</sup>	0.06(11)
Correlación	0.19	0.23	0.59	0.75	0.19	-0.11	0.18	

RC: resistencia al corte; EGD: espesor de grasa dorsal; AOB: área del ojo del bife; PROF: profundidad; TE: tasa de engrasamiento; GDPV: ganancia de peso diaria; PF: peso final

Los resultados del análisis multivariado muestran que un 89 % de las diferencias entre genotipos del CAPN1 316 se explica por diferencias en terneza, en peso final y en ganancia de peso diaria durante la internada: los novillos GG para CAPN1 316 tuvieron mayor ganancia de peso, mayor peso a un espesor de grasa similar y su carne fue más resistente al corte que novillos CG y CC. La profundidad y el área del ojo del bife, éste último con coeficiente negativo en el vector, también contribuyen a la diferenciación, aunque en menor medida. El segundo vector explica el 11% de la varianza restante. Es decir, que ambos explican el total de las diferencias entre los genotipos. En este segundo vector, ortogonal al primero, las diferencias entre genotipos están determinadas por el área del ojo del bife y la profundidad. Las otras variables presentan correlaciones de baja y similar magnitud con la variable canónica implicando ponderaciones similares en las diferencias entre genotipos. Las variables espesor de grasa dorsal y tasa de crecimiento del espesor de grasa dorsal, no intervinieron en forma importante en la diferenciación entre genotipos en ninguno de los dos vectores.

La Figura 1 muestra el gráfico de las variables canónicas 1 y 2 de cada genotipo. En él, puede observarse que para la variable canónica 1 el genotipo CG se encuentra aproximadamente en el promedio de CC y GG: animales CG tuvieron promedios de mínimos cuadrados intermedios entre los homocigotos (Cuadro 2) para las variables importantes en el vector. Para la variable canónica 2, el genotipo CG tiene un valor superior al de los dos homocigotos. Ello es consecuencia de que el promedio del genotipo CG es similar al GG para profundidad y superior para área del ojo del bife que el de ambos homocigotos, si bien en el análisis univariado, no hubo diferencias estadísticamente significativas para área del ojo del bife (Cuadro 2).

De acuerdo con estos resultados, entonces, si se eligen animales de acuerdo a este marcador, debe tenerse en cuenta que además de diferencias en terneza, en lo que la bibliografía parecería estar de acuerdo, (Page et al., 2004) también pueden esperarse diferencias en otros caracteres: en peso a espesor de grasa constante, ganancia de peso en internada, y en menor medida, área del ojo del bife y profundidad. Estas últimas, probablemente por su relación con el peso a la faena y ganancia de peso. La correlación genética entre área del ojo del bife y peso de la canal, (el cual está correlacionado con el peso vivo) es de 0.41 (Marshall, 1999).

Se obtuvieron los coeficientes parciales de correlación entre las variables dependientes y figuran en el Cuadro 4. Dichas correlaciones se obtuvieron a partir de la matriz de la sumas de cuadrados del error del análisis multivariado especificado, por lo tanto, están ajustadas por genotipo y grupo. En este cuadro se observa que la correlación entre la resistencia al corte y el peso final es negativa. Sin embargo, al analizar los coeficientes de los vectores canónicos, se había observado que los genotipos con promedios de resistencia al corte superiores (GG) también tenían promedios superiores para peso final (Cuadro 2). La dirección de esta asociación es inversa a la obtenida cuando se la analiza dentro de grupo y de genotipo CAPN1 316. Es decir esta asociación aparece como positiva cuando se analizan promedios por genotipo y negativa cuando se considera la información dentro de grupo y genotipo. Parecería existir un efecto del genotipo y para aquellos animales similares de un genotipo, otros efectos le darían el sentido a la asociación.

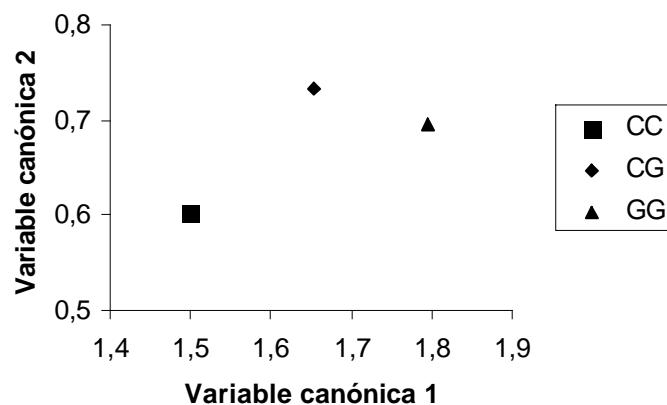


Figura 1. Variables canónicas 1 y 2 de los genotipos del CAPN1 316 que incluyen resistencia al corte, espesor de grasa dorsal, tasa de crecimiento de grasa dorsal, ganancia de peso diaria, peso final, área del ojo del bife y profundidad.

Cuadro 4. Correlaciones parciales entre las variables dependientes.

	RC	EGD	AOB	PROF	TE	GDPV	PF
RC	1.0	-0.21	0.02	0.03	-0.22	-0.23*	-0.27*
EGD		1.0	0.14	0.12	0.79*	0.33*	0.46*
AOB			1.0	0.63*	0.02	0.19	0.24*
PROF				1.0	-0.02	0.17	0.30*
TE					1.0	0.50*	0.54*
GDPV						1.0	0.71*

RC: resistencia al corte; EGD: espesor de grasa dorsal; AOB: área del ojo del bife; PROF: profundidad; TE: tasa de engrasamiento; GDPV: ganancia de peso diaria; PF: peso final

\*  $P < .05$

Se ha trabajado con variabilidad fenotípica de los caracteres analizados. A la luz de estos resultados sería deseable generar información que permita trabajar con variabilidad genética de las variables consideradas para conocer la naturaleza de las relaciones halladas.

### Conclusiones

Se espera que, además de terneza, otros caracteres como peso final a un determinado espesor de grasa dorsal, ganancia de peso diferencien a los genotipos del marcador CAPN1 316. Espesor de grasa dorsal

o su tasa de crecimiento, no se modifican por el genotipo. Es importante el conocimiento de estas relaciones a la hora de elegir marcadores moleculares como herramientas para la selección.

### Literatura Citada

- Corva, P, L. Soria, J. Papaleo Mazzuco, E. Villarreal, L. Melucci, C. Mezzadra, A. Schor, M. Motter. 2007. Evaluación de marcadores moleculares asociados a diferencias en terneza de la carne de novillos Brangus. XX Reunion Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Cusco, Perú.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43: S1931996
- Marshall, D.1999. Genetics of meat quality. En: R. Fries y A. Ruvinsky (Ed.). *The Genetics of Cattle*. CABI. Wallingford, Oxon, UK. p. 605-636.
- Page, B.T., Casas, E., Heaton, M.P., Cullen, N.G., Hyndman, D.L., Morris, C.A., Crawford, A.M., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Keele, J.W. and T.P.L. Smith. 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness en cattle. *J. Anim. Sci.* 80: 3077.
- Page, B.T., Casas, E., Quaas, R.L., Thallman, R.M., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M, White, S.N., Bennett, G.L., Keele, J.W., Dikeman, M.E., and T.P. Smith. 2004. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J. Anim. Sci.* 82: 3474.
- SAS Institute Inc.1998. *SAS/STAT User's guide*, Versión 6. SAS Inst.,Inc.,Cary, NC.
- Soria, LA, Corva, PM, Branda Sica, A, Schor, A, Melucci, L, Villarreal, E, Mezzadra, C y MC Miquel. 2006. Efecto de tres snp del gen CAPN1 sobre la terneza de la carne en novillos. XXXV Congreso Argentino de Genética. San Luis.