



TERNEZA

SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES (SAM)

La calidad de la carne constituye un importante factor de interés económico. El color, el % de grasa intramuscular (marmóreo o vetado), el área de ojo de bife y la palatabilidad son los principales atributos que determinan la calidad de las carnes bovinas. La palatabilidad es una característica compuesta por la combinación de tres factores: sabor, jugosidad y terneza; está comprobado que esta última es el atributo más apreciado por los consumidores.

En la última década, la selección de reproductores por calidad de carne ha sido una de las prioridades que la Asociación Argentina de Angus viene concretando. Prueba de ello es la medición objetiva de área de ojo de bife, % de grasa intramuscular, espesor de grasa dorsal y espesor de grasa de cadera, usando técnicas de ultrasonido en el animal en vivo, y transformando posteriormente dichas mediciones en Diferencias Esperadas entre Progenies (DEP), para producir cambios direccionales en estas importantes características de interés económico.

Sin embargo, poco o nada se avanzó en la selección de toros padres por terneza usando el método tradicional (Warner-Bratzler), pues requiere medirla al momento de la faena. Esto implicaba dos alternativas: matar al potencial toro padre, haciendo reserva de semen, o matar los novillos de los potenciales toros padres y realizar una prueba de progenie (4 ó 5 años) con las limitantes no sólo de tiempo y costo, sino también impracticable a nivel de una evaluación objetiva de reproductores a nivel nacional (Resúmenes de Padres). Consecuentemente, por ser de compleja medición, la selección clásica de reproductores por terneza, a través de la medición objetiva de la "fuerza de corte de Warner-Bratzler" (WBSF), no ha resultado una herramienta útil o práctica para el mejoramiento del ganado. Por lo tanto, acceder a una metodología de Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM) proveería una nueva herramienta de selección objetiva para el mejoramiento genético de la terneza en los rodeos bovinos de carne, sin tener la necesidad de faenar las progenies de los toros padres, evitando la demora en tiempo y costo que esto siempre implica.

ANTECEDENTES

En los últimos años, estudios realizados en el genoma bovino en Estados Unidos y Australia, por comparación entre rodeos productores de carnes con altos índices de terneza y rodeos que proporcionan carnes de menor calidad, han identificado diversas mutaciones puntuales (single nucleotide polymorphisms - SNPs) en los genes de la Calpastatina (CAST) y de la Calpaína (CAPN1), dos enzimas que intervienen en los procesos de tiernizado post mortem de la carne, y que están asociadas a variaciones de la terneza en las subespecies *Bos taurus* y *Bos indicus*. Entre ellos se encuentran, en el cromosoma 29, sobre el gen de la Calpaína, los marcadores CAPN1₃₁₆ y CAPN1₄₇₅₁, y en el cromosoma 7, sobre el gen de la Calpastatina, los marcadores CAST₂₉₅₉ y UoG-CAST.



La "fuerza de corte de Warner-Bratzler" (WBSF) es una medida objetiva que estima la cantidad de fuerza que se requiere para cortar un cubo de 1,27 cm³ de carne en condiciones estándares de cocción, y constituye un indicador de terneza que predice la sensación potencial que se experimentaría al ingerir un determinado corte. El uso de esta técnica permitió la correlación de la terneza (medida en forma objetiva) con la presencia de las variables más o menos favorables de los marcadores moleculares (estudio de ADN).

Algunos grupos de investigación independientes han realizado evaluaciones imparciales y objetivas para confirmar y validar la existencia de una asociación entre los marcadores moleculares mencionados y los valores medidos de WBSF.

Recientemente se publicó (Ref. 19 de Anexo I, en este Resumen de Padres: "Journal of Animal Science", 2007) un trabajo de colaboración entre el National Beef Cattle Evaluation Consortium -NBCEC- (<http://www.nbcec.org>) (integrado por las Universidades de Colorado, Cornell, Georgia, Iowa, Kansas y Kentucky), el US Meat Animal Research Center y las Universidades de California, Texas, Louisiana y Nuevo México. Este trabajo, que incluyó a más de 1.300 animales, ha demostrado que los individuos con las variantes alélicas (genéticas) más favorables (+) para los marcadores de Calpaína y Calpastatina tienen una correlación altamente significativa ($P < 0,001$) con la terneza de la carne, medida mediante el método de WBSF.

¿QUÉ HIZO LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE ANGUS?

En base a lo expuesto, la Asociación Argentina de Angus inició trabajos preliminares para evaluar reproductores de la raza por terneza. En este sentido, se hizo un primer muestreo para validar los métodos y estudiar la posibilidad de incluir esta importante característica en nuestro Programa de Evaluación de Reproductores AnGus (ERA) o como potencial servicio a sus criadores. Dicho muestreo se hizo mediante la obtención de ADN (ácido desoxirribonucleico) en sangre, bulbo piloso y semen.

Para determinar la frecuencia génica de cada variante (marcador molecular) en la población AnGus, se decidió estudiar el ADN de 303 toros seleccionados de entre los que han dejado mayor número de hijos en la población de pedigree y de puro controlado, utilizando los toros padres listados en el Programa ERA y en los registros genealógicos de la Sociedad Rural Argentina (ver Anexo I).

El muestreo de los animales fue realizado dentro del marco del convenio entre la Asociación Argentina de AnGus y la Unidad de Genética Animal del INTA-Castelar, poniéndose énfasis en los reproductores adheridos al Programa ERA. Los estudios moleculares fueron realizados en el Laboratorio de Biología Molecular de AgroCiencia, mientras que los análisis estadísticos e interpretación de los resultados, por la citada Unidad de Genética Animal del INTA-Castelar.

El número de animales estudiados ($n=303$) y el tipo de muestreo realizado permiten obtener importantes conclusiones sobre las frecuencias génicas y genotípicas en la población de animales de raza 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 (ver Anexo I).

De los datos que muestra la **Tabla II** del Anexo I, es importante destacar la alta frecuencia génica (0,916) del alelo favorable (+) encontrada en Calpastatina₂₉₅₉ en nuestra raza AnGus. Recordemos que de la Calpastatina no favorable (-), que bloquea el proceso de tiernización post mortem de la Calpaína, se encontró una frecuencia génica muy baja (0,084). En otras palabras, corresponde remarcar que la alta frecuencia génica de la variante alélica favorable (+) de Calpastatina₂₉₅₉ en nuestra raza AnGus, limita en gran medida su efecto bloqueador indeseable. A su vez, la alta frecuencia génica ($f=0,727$) del alelo favorable (+) de la Calpaína₄₇₅₁, más la aceptable -pero mejorable- frecuencia génica (0,294) del alelo favorable (+) de Calpaína₃₁₆, nos brinda nuevas expectativas y herramientas para

trabajar con Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM).

Por tal motivo, este trabajo, el único realizado a nivel poblacional, es de suma importancia para la selección objetiva de reproductores por terneza. En este sentido, las frecuencias génicas obtenidas para las variantes favorables (+) de los marcadores Calpastatina₂₉₅₉ ($f=0,916$), Calpaína₃₁₆ ($f=0,294$) y Calpaína₄₇₅₁ ($f=0,727$), en la raza AnGus, abren nuevas expectativas y herramientas para trabajar con SAM, para seleccionar reproductores a una edad temprana, por una característica como terneza, quizá el atributo más buscado por los consumidores, tanto en el mercado interno como externo.

En otras palabras, esto significa que la alta frecuencia génica de la variante alélica favorable (+) de Calpastatina₂₉₅₉ en nuestra raza AnGus no es un detalle menor, pues dicha proteína favorece (no inhibe) el proceso de tiernización post mortem realizado por la Calpaína. Por otra parte, ambos marcadores moleculares de Calpaína muestran frecuencias génicas razonables y acordes con las más altas de la bibliografía internacional.

Desde 1989, la Asociación Argentina de AnGus lleva adelante el Programa ERA, basado en medidas objetivas sobre características que hacen a la reproducción, el crecimiento y la calidad de la carne (ultrasonido). En el marco de este Programa, en la actualidad hay doce características cuantitativas de interés económico que se analizan usando el 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 a dicho Programa otra característica muy relevante en lo que respecta a calidad de carne (marcadores moleculares), como lo es su terneza, se realizó el presente trabajo tendiente a medir las frecuencias génicas de las variantes alélicas favorables (+) y no favorables (-) de los marcadores Calpaína₃₁₆, Calpaína₄₇₅₁ y Calpastatina₂₉₅₉ en la población AnGus de la Argentina, ya que todo plan de SAM debe iniciarse con el conocimiento de las frecuencias génicas de las que se parte, dado que el mejoramiento animal se basa en aumentar en la población, la frecuencia génica de los alelos favorables (+).

En consecuencia, en la **Tabla III** del Anexo I se ilustran las frecuencias genotípicas de los toros padres del estudio, en base a su "genotipo combinado" de Calpastatina₂₉₅₉, Calpaína₃₁₆ y Calpaína₄₇₅₁. Es importante destacar que de los 303 toros padres evaluados, el 8,7% (genotipo 1) son reproductores seis positivos (+++ ++ ++) que actualmente han transmitido o están transmitiendo, con seguridad, a todas sus progenies la

totalidad de las variantes alélicas favorables asociadas a terneza, independientemente de la constitución genotípica de los vientres que se aparean. Es decir, estos toros padres no van a segregar alelos no favorables (-), cualquiera sea el genotipo del vientre que se aparearon o se apareen en el futuro. Sin excepción, sus gametas (haploides) siempre serán (++++) para los tres marcadores moleculares.

Además, encontramos un 21,8% de los toros padres con cinco alelos positivos (favorables), siendo el genotipo más frecuente (++ +- ++), como consecuencia de tener Calpastatina₂₉₅₉ ++, Calpaína₃₁₆ +- y Calpaína₄₇₅₁ ++. Esto implica que estos últimos toros padres están transmitiendo o han transmitido, al 50% de sus progenies e independientemente del apareamiento (genotipo del vientre), los genes favorables para Calpaína₃₁₆ (+-) y el 100% de las variantes alélicas favorables de Calpastatina₂₉₅₉ (++) y Calpaína₄₇₅₁ ++. En otras palabras, el 50% de las gametas de estos toros padres tendrán el haplotipo más favorable para todos los alelos (++++) asociados a terneza. Consecuentemente, esto implica una gran probabilidad de que el 50% de las progenies de los mencionados toros padres tengan los marcadores moleculares (genotipos) favorables asociados a terneza, pudiendo este porcentaje ser aún mayor, si los vientres que se aparean portan las variantes alélicas favorables. Esto demuestra el impacto de tener toros padres evaluados (y con alelos favorables) por marcadores moleculares de terneza y la implicancia de su uso a nivel poblacional, así como también, la importancia de evaluar vientres donantes en programas que hacen uso de la transferencia embrionaria.



RESUMEN DE PADRES ANGUS 2008: SAM PARA TERNEZA

La variante alélica de mayor terniza de un marcador se identifica, por "simplicidad" con (+) y la de menor terniza como (-). Por lo tanto, para cada marcador, los animales pueden ser ++ (homocigota para mayor terniza), -- (homocigota para menor terniza) ó +- (heterocigota). Estos marcadores son los mismos a los utilizados en el GeneSTAR® Tenderness³ (Genetic Solutions Pty Ltd. Albion, Australia).

El genotipo más favorable a la terniza (6 positivos) para CAST₂₉₅₉, CAPN1₃₁₆ y CAPN1₄₇₅₁ es +++ +++ +++ (o según Anexo I: AA CC CC), respectivamente, mientras que el menos favorable a la terniza -- -- -- (o según Anexo I: GG GG TT). Dentro de estas dos variantes extremas tenemos 27 combinaciones posibles que indican mayor o menor terniza (o fuerza de corte), de acuerdo a cómo se presenten estos tres marcadores moleculares en un reproductor (o genotipo) en particular. La diferencia entre estos dos reproductores, de acuerdo a sus genotipos, según el trabajo de validación (Ref. 19 de Anexo I: "Journal of Animal Science", 2007) podría llegar a ser de 1 kilo en menor fuerza de corte. No existe una validación que confirme esta magnitud en la Argentina. Sin embargo, y sin ninguna duda, estos tres marcadores moleculares están, en mayor o menor medida, asociados a terniza, siendo la SAM una nueva herramienta que no tendríamos que desaprovechar. Quizá, en un futuro próximo, surjan más marcadores moleculares que expliquen o agreguen más a lo aquí expuesto, pero en la actualidad esto es lo que la comunidad científica nos está brindando. Si usted observa el listado de toros padres Angus incluido en este Resumen 2008, tiene la oportunidad, por primera vez en la Argentina, de seleccionar un reproductor por terniza, haciendo uso de tres marcadores moleculares asociados a la misma. Pero siempre recuerde que en bovinos para carne no debe seleccionarse por una única característica, sino priorizar las ligadas a reproducción, crecimiento y calidad de carne, en ese orden.

Dado que ya existe información confiable, generada en el país y en el extranjero, sobre la utilidad de los tests para terniza con marcadores genéticos, 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 debatir la conveniencia de incluir la información sobre los marcadores moleculares de terniza, de aproximadamente 300 toros padres con un gran número de progenies en nuestro Programa ERA.

Este trabajo muestra cómo cada reproductor puede ser actualmente evaluado con "tres marcadores molecula-



res" asociados a terniza, explicitando para cada uno la presencia o ausencia de la variante más favorable de cada marcador, pudiendo 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 y/o son de difícil medición y/o se miden tardíamente (faena - pruebas de progenie) en los controles de producción. Para otras características, como el veteado o marbling (% de grasa intramuscular), el poder medir directamente el fenotipo por ecografía, disminuye la importancia de los marcadores moleculares sobre ellas. Cabe destacar que los marcadores moleculares indican una asociación con la característica de interés económico analizada, pero no explican 100% la variación genética total. 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 terniza.

Es importante destacar que estos marcadores son más relevantes en la comercialización de carne fresca, es decir la que se realiza cerca de la faena. En nuestro país, el 80% de la faena tiene como destino el mercado interno, dentro de esta modalidad. En el caso de la carne de exportación, que es sometida a procesos de enfriado por un tiempo considerable, el proceso de maduración favorece la tiernización de la misma. En consecuencia, la selección de reproductores por mayor terniza favorece la misma, independientemente de la edad de los animales y tiempo de maduración de la carne.

TERNEZA ANEXO I: FRECUENCIAS GÉNICAS EN LA RAZA ANGUS

TÍTULO

Calidad de Carne: Terniza. Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM).

Frecuencias Génicas de Calpastatina₂₉₅₉, Calpaína₃₁₆ y Calpaína₄₇₅₁ en la Raza Angus de la Argentina.

Autores

Guitou H⁽¹⁾, Monti A⁽¹⁾, Sutz G⁽¹⁾, Baluk M⁽¹⁾, Ellinger A⁽¹⁾, Bustillo A⁽²⁾, Fernández Alt M⁽²⁾, Matilla S⁽³⁾, Saez G⁽³⁾, Pérez Lloret J⁽³⁾, Herrmann P⁽³⁾ y Schijman A⁽⁴⁾.

⁽¹⁾Unidad de Genética Animal - Instituto de Patobiología- INTA Castelar

⁽²⁾Asociación Argentina de Angus - Programa ERA

⁽³⁾AgroCiencia

⁽⁴⁾INGEBI - CONICET

Este trabajo se realizó gracias al apoyo financiero brindado por el Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (IPCVA) y a la colaboración de los criadores de la raza Angus.

"SIEMPRE RECUERDE QUE EN BOVINOS PARA CARNE NO DEBE SELECCIONARSE POR UNA ÚNICA CARACTERÍSTICA, SINO PRIORIZAR LAS LIGADAS A REPRODUCCIÓN, CRECIMIENTO Y CALIDAD DE CARNE, EN ESTE ORDEN".

RESUMEN

En la última década, la selección de reproductores por calidad de carne ha sido una de las prioridades que la Asociación Argentina AnGus viene concretando. Prueba de ello es la medición objetiva de Área de Ojo de Bife, % de Grasa Intramuscular, Espesor de Grasa Dorsal y Espesor de Grasa de Cadera, usando técnicas de ultrasonido en el animal en vivo, y transformando posteriormente dichas mediciones en Diferencias Esperadas entre Progenies (DEP), para producir cambios direccionales en estas importantes características de interés económico. Sin embargo, poco o nada se avanzó en la selección de toros padres por terneza usando el método tradicional (Warner-Bratzler), pues requiere medirla al momento de la faena. Esto implicaba dos alternativas: matar al potencial toro padre, haciendo reserva de semen, o matar los novillos de los potenciales toros padres y realizar una prueba de progenie (4 ó 5 años) con las limitantes no sólo de tiempo y costo, sino también impracticable a nivel de una evaluación objetiva de reproductores a nivel nacional (Resúmenes de Padres). Por tal motivo, este trabajo, el único realizado a nivel poblacional, es de suma importancia para la selección objetiva de reproductores por terneza. En este sentido, las frecuencias génicas obtenidas en la raza AnGus para las variantes favorables de los marcadores Calpastatina₂₉₅₉ ($f=0,916$), Calpaína₃₁₆ ($f=0,294$) y Calpaína₄₇₅₁ ($f=0,727$) abren nuevas expectativas y herramientas para trabajar con Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM) para seleccionar reproductores a una edad temprana, por una característica como terneza, quizá el atributo más buscado por los consumidores, tanto en el mercado interno como externo. Al respecto, debemos destacar que la alta frecuencia génica de la variante alélica favorable (+) de Calpastatina₂₉₅₉ en nuestra raza AnGus no es un detalle menor, pues dicha proteína favorece (no inhibe) el proceso de tiernización post mortem realizado por la Calpaína. Por otra parte, ambos marcadores moleculares de Calpaína muestran frecuencias génicas razonables y acordes con las más altas de la bibliografía internacional.

INTRODUCCIÓN

La calidad de la carne constituye un importante factor de interés económico. El color, el % de grasa intramuscular (marmóreo o veteado), el área de ojo de bife y la palatabilidad son los principales atributos que determinan la calidad de las carnes bovinas. La palatabilidad es una característica compuesta por la combinación de tres factores: sabor, jugosidad y terneza; está comprobado que esta última es el atributo más apreciado por los consumidores. Sin embargo, la terneza constituye una característica de compleja medición en el momento de la faena. Por ello, la selección clásica de reproductores por terneza, a través de la medición objetiva de la "fuerza de corte Warner-Bratzler" (WBSF), no ha resultado una herramienta útil o práctica para el mejoramiento del ganado. Por lo tanto, acceder a una metodología de selección asistida por marcadores moleculares (SAM) proveería una nueva herramienta de selección objetiva para el mejoramiento genético de la terneza en los rodeos bovinos de carne, sin tener la necesidad de faenar las progenies de los toros padres evitando la demora en tiempo y costo que esto siempre implica.

En los últimos años, estudios realizados en el genoma bovino en Estados Unidos y Australia, por comparación entre rodeos productores de carnes con altos índices de terneza y rodeos que proporcionan carnes de menor calidad, han identificado diversas mutaciones puntuales (single nucleotide polymorphisms, SNPs) en los genes de la Calpastatina (CAST) y de la Calpaína (CAPN1), dos enzimas que intervienen en los procesos de tiernizado post mortem de la carne, y que están asociadas a variaciones de la terneza en las subespecies *Bos taurus* y *Bos indicus*. Entre ellos se encuentran, en el cromosoma 29, sobre el gen de la Calpaína, los marcadores CAPN1₃₁₆, CAPN1₅₃₀ y CAPN1₄₇₅₁, y en el cromosoma 7, sobre el gen de la Calpastatina, los marcadores CAST₂₉₅₉ y UoG-CAST. La "fuerza de corte Warner-Bratzler" (WBSF) es una medida objetiva que estima la cantidad de fuerza que se requiere para cortar un cubo de 1,27 cm³ de carne en condiciones estándares de cocción, y constituye un indicador de terneza que predice la sensación potencial que se experimentaría al ingerir un determinado corte. El uso de esta técnica permitió la correlación de la terneza (medida en forma objetiva) con la presencia de las variables más o menos favorables de los marcadores moleculares.

Algunos grupos de investigación independientes han realizado evaluaciones imparciales y objetivas para confirmar y validar la existencia de correlación entre los marcadores moleculares y los valores medidos de WBSF. Recientemente se publicó un trabajo de colaboración entre el National Beef Cattle Evaluation Consortium -NBCEC- (<http://www.nbcec.org>) (integrado por las Universidades de Colorado, Cornell, Georgia, Iowa, Kansas y Kentucky), el US Meat Animal Research Center y las Universidades de California, Texas, Louisiana y Nuevo México. Este trabajo, que incluyó más de 1.300 animales, ha demostrado que los individuos con las variantes alélicas (gené-

"ESTE TRABAJO, EL ÚNICO REALIZADO A NIVEL POBLACIONAL, ES DE SUMA IMPORTANCIA PARA LA SELECCIÓN OBJETIVA DE REPRODUCTORES POR TERNEZA".



tas) más favorables para los marcadores de Calpaína y Calpastatina tienen una correlación altamente significativa ($P<0,001$) con la terneza de la carne, medida mediante el método de Warner-Bratzler.

Desde 1989, la Asociación Argentina de AnGus lleva adelante el Programa de Evaluación de Reproductores AnGus (ERA), basado en medidas objetivas sobre características que hacen a la reproducción, el crecimiento y la calidad de la carne. En el marco de este Programa, en la actualidad hay doce características cuantitativas de interés económico que se analizan 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 a dicho Programa otra característica muy relevante en lo que respecta a calidad de carne, como lo es su terneza, se realizó el presente trabajo tendiente a medir las frecuencias génicas de las variantes alélicas favorables y no favorables de los marcadores Calpaína₃₁₆, Calpaína₄₇₅₁ y Calpastatina₂₉₅₉ 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.

MATERIALES Y MÉTODO

Marcadores moleculares:

Los marcadores seleccionados fueron: a) Calpastatina₂₉₅₉ (CAST₂₉₅₉), que es un SNP producto de una transición de guanina a adenina en la base 2959 del gen CAST situado en el cromosoma BTA 7 (GeneBank acceso #AF159246; Barendse, 2002); b) Calpaína₃₁₆ (CAPN1₃₁₆), que es un SNP producto de una sustitución guanina por citosina en la base 5709 del gen CAPN1 situado en el cromosoma BTA 29 (GeneBank acceso #AF252504; Page et al, 2002) que modifica el aminoácido en la posición 316 de la proteína; y c) Calpaína₄₇₅₁ (CAPN1₄₇₅₁), que es otro SNP originado por una transición citosina a timina en la base 6545 del gen CAPN1 (GeneBank acceso #AF248054; White et al, 2005); el nombre de este último marcador deriva del U.S. Meat Animal Research Center y no tiene ninguna relación con el gen CAPN1, tanto en la secuencia del ADN (ácido desoxirribonucleico) como en la de la proteína.

La variante alélica de mayor terneza de un marcador se identifica con + y la de menor terneza como -. Por lo tanto, para cada marcador, los animales pueden ser ++ (homocigota para mayor terneza), -- (homocigota para menor terneza) ó +- (heterocigota). Estos marcadores son los mismos a los utilizados en el GeneSTAR® Tenderness³ (Genetic Solutions Pty Ltd. Albion, Australia).

El genotipo más favorable a la terneza (6 positivos) para CAST₂₉₅₉, CAPN1₃₁₆ y CAPN1₄₇₅₁ es AA CC CC respectivamente, mientras que el menos favorable a la terneza (6 negativos) es GG GG TT.

Metodología:

La identificación de cada variante alélica se realizó sobre una muestra de ADN obtenido a partir de semen o de bulbo piloso de cada animal, mediante una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), e identificación de la mutación por secuenciación del fragmento amplificado (PCR-SEC), por Amplificación Alelo Específica (PCR-ASA), o por Polimorfismo de los Fragmentos de Restricción (PCR-RFLP).

Muestreo de los animales:

Para determinar la frecuencia génica de cada variante en la población Angus, se decidió estudiar el ADN de 303 toros seleccionados de entre los que han dejado mayor número de hijos en la población de pedigree y de puro controlado, utilizando los toros padres listados en el Programa ERA y en los registros genealógicos de la Sociedad Rural Argentina (SRA).

El muestreo de los animales fue realizado dentro del marco del convenio entre la Asociación Argentina de Angus y la Unidad de Genética Animal del INTA-Castelar, poniéndose énfasis en los reproductores adheridos al Programa ERA. Los estudios moleculares fueron realizados en el Laboratorio de Biología Molecular de AgroCiencia, mientras que los análisis estadísticos e interpretación de los resultados, por la citada Unidad de Genética Animal del INTA-Castelar.

RESULTADOS

A partir de un listado de 3.437 toros padres de pedigree pertenecientes al Programa ERA, que dejaron en la población un total de 183.027 hijos (de pedigree y puro controlado), se obtuvieron muestras de 303 toros (8,8% del listado), padres de 56.959 animales (31,1% del total de hijos); de los mismos, 201 son negros y 102 son colorados.

Las muestras de ADN (semen o pelo) de los 303 animales analizados fueron remitidas por 35 cabañas y centros de inseminación. Del total mencionado, 251 animales son de origen nacional (N), que poseen 52 prefijos diferentes, mientras que los 52 animales restantes son importados (I), con 38 prefijos del mismo origen (ver **Tabla I**).

Tabla I: Listado de prefijos, cantidad de animales y origen.

prefijo	n° animales	N/I	prefijo	n° animales	N/I	prefijo	n° animales	N/I	prefijo	n° animales	N/I	prefijo	n° animales	N/I
LAS LILAS	21	N	BENJAMIN	4	N	STRATUM	2	N	CHIVILANGUS	1	N	PAYMA	1	N
TRES MARIAS	21	N	G A R	4	I	4L	1	I	CIRO'S	1	N	PEYMA	1	N
TAPAYU	18	N	ANTEOJITO	3	N	ALGUIL	1	N	CONNEALY	1	I	PLUSGEN	1	I
SANTA SERGIA	16	N	DOBLEHACHE	3	N	ANDRAS	1	I	COPPER	1	I	QLC	1	I
CASAMU	13	N	LEACHMAN	3	I	ANKONIAN	1	I	DON PANCHO	1	N	RD BASIN	1	I
MAULEON	13	N	MORRIS	3	N	ARRANQUE	1	N	EPEU	1	N	RED PRINCE	1	I
TANINO	12	N	O.C.C	3	I	B/R	1	I	ERCO	1	N	S.S. DECATUR	1	I
SIBILA	10	N	RITO	3	I	BADARSA	1	N	ERRE TE	1	I	SAN JAVIER	1	N
EL ABRA	9	N	RUBETA	3	N	BAR	1	I	F A F	1	I	SODAK	1	I
GUAICOS	9	N	SITZ	3	I	BARRIMOR	1	N	F A R	1	I	TAISA	1	N
PAMPEANO	9	N	SURANGUS	3	N	BELCHA	1	N	FLORIDA	1	N	TOSU	1	N
LA LEGUA	8	N	ARVAL	2	N	BEST	1	I	GENETICS BY DESIGN	1	I	WEBR	1	I
BLACK PRINCE	7	N	BASIN	2	I	BHC	1	I	GUSTI	1	N	WIND	1	I
LUQUENSE	6	N	CHARLES	2	N	BLACK	1	I	LA SEGUNDA	1	N	WOODHILL	1	I
MOON	6	N	CURA	2	N	BLUE RIDGE	1	I	LCC	1	I		303	90
PIRAY	6	N	EOLIA	2	N	BUF	1	I	LM	1	I			
AGROMELU	5	N	GUE GLEN NORTE	2	N	C.R.A	1	I	LOOSLI DIVIDE	1	I	Nacionales	251	52
PRIMAVERA	5	N	NICHOLS	2	I	C.U	1	I	MINOTAUR	1	N	Importados	52	38
SANFER	5	N	STEVENSON	2	I	CHALTEN	1	N	PASTORIZA	1	N	N = Nacionales, I = Importados		

De las 303 muestras recibidas, el 74,9% (227) fueron de semen y el 25,1% (76) restante fueron de pelo. Se obtuvieron 303 resultados de Calpastatina₂₉₅₉, 301 de Calpaína₃₁₆ y 298 de Calpaína₄₇₅₁. En la **Tabla II** se observa la distribución de animales obtenida para cada genotipo y el cálculo de las frecuencias génicas de las variables alélicas más (+) y menos (-) favorables para la terneza, para cada uno de los tres

marcadores moleculares estudiados. Cabe destacar la alta frecuencia génica (0,916) del alelo favorable (+) encontrada en Calpastatina₂₉₅₉ en nuestra raza Angus. Recordemos que de la Calpastatina no favorable (-), que bloquea el proceso de tiernización post mortem de la Calpaína, se encontró una frecuencia génica muy baja (0,084). En este sentido, debemos destacar que la alta frecuencia génica de la variante alé-

lica favorable (+) de Calpastatina₂₉₅₉ en nuestra raza Angus, limita en gran medida su efecto bloqueador indeseable. A su vez, la alta frecuencia génica (0,727) del alelo favorable (+) de la Calpaína₄₇₅₁, más la aceptable -pero mejorable- frecuencia génica (0,294) del alelo favorable (+) de Calpaína₃₁₆, nos brinda nuevas expectativas y herramientas para trabajar con Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM).

Tabla II: Frecuencias genotípicas y génicas.

Genotipo	Calpastatina ₂₉₅₉		Calpaína ₃₁₆		Calpaína ₄₇₅₁	
	n	%	n	%	n	%
++	254	83,8%	38	12,6%	155	52,0%
+-	47	15,5%	101	33,6%	123	41,3%
--	2	0,7%	162	53,8%	20	6,7%
Total	303	100,0%	301	100,0%	298	100,0%
Frecuencia génica de la variante más favorable (+)	0,916		0,294		0,727	
Frecuencia génica de la variante menos favorable (-)	0,084		0,706		0,273	

“CABE DESTACAR LA ALTA FRECUENCIA GÉNICA (0,916) DEL ALELO FAVORABLE (+) ENCONTRADA EN LA CALPASTATINA₂₉₅₉ EN NUESTRA RAZA ANGUS”.

En consecuencia, la **Tabla III** ilustra las frecuencias genotípicas de los toros padres del estudio, en base a su genotipo combinado de Calpastatina₂₉₅₉, Calpaína₃₁₆ y Calpaína₄₇₅₁. Es importante destacar que, de los 298 toros padres evaluados para los tres marcadores, el 8,7% (genotipo 1) son reproductores seis positivos (++) que, con seguridad, actualmente han transmitido o están transmitiendo, con seguridad, a todas sus progenies la totalidad de las variantes alélicas favorables asociadas a terneza, independientemente de la constitución genotípica de los vientres que se aparean. Es decir, estos toros padres no van a segregar alelos no favorables (-), cualquiera sea el genotipo del

vientre que se aparearon o se apareen en el futuro. Sin excepción, sus gametas (haploides) siempre van a ser (++++) para los tres marcadores moleculares. Además, encontramos un 21,8% de los toros padres con cinco alelos positivos (favorables), siendo el genotipo más frecuente (++) (+- ++), como consecuencia de tener Calpastatina₂₉₅₉ ++, Calpaína₃₁₆ +- y Calpaína₄₇₅₁ ++. Esto implica que dichos toros padres están transmitiendo o han transmitido, al 50% de sus progenies e independientemente del apareamiento (genotipo del vientre), los genes favorables para Calpaína₃₁₆ (+-) y el 100% de las variantes alélicas favorables de Calpastatina₂₉₅₉ (++) y Calpaí-

na₄₇₅₁ ++. En otras palabras, el 50% de las gametas de estos toros padres tendrán el haplotipo para todos los alelos favorables (++++) asociados a terneza. En consecuencia, esto implica una gran probabilidad de que el 50% de las progenies de los toros padres mencionados tengan los marcadores moleculares (genotipos) favorables asociados a terneza, pudiendo este porcentaje ser aún mayor, si los vientres que se aparean portan las variantes alélicas favorables. Esto demuestra el impacto de tener toros padres evaluados (y con alelos favorables) por marcadores moleculares de terneza y la implicancia de su uso a nivel poblacional.

Tabla III: Proporción de cada genotipo en la población.

	GENOTIPO			Animales			GENOTIPO			Animales	
	Calpastatina ₂₉₅₉	Calpaína ₃₁₆	Calpaína ₄₇₅₁	n	%		Calpastatina ₂₉₅₉	Calpaína ₃₁₆	Calpaína ₄₇₅₁	n	%
1	++	++	++	26	8,7%	16	++	--	+-	75	25,2%
2	++	++	+-	2	0,7%	17	+-	--	++	11	3,7%
3	+-	++	++	5	1,7%	18	--	++	--	0	0,0%
4	++	+-	++	58	19,5%	19	+-	+-	--	0	0,0%
5	++	++	--	0	0,0%	20	--	+-	+-	0	0,0%
6	+-	++	+-	2	0,7%	21	++	--	--	16	5,4%
7	--	++	++	1	0,3%	22	+-	--	+-	10	3,4%
8	++	+-	+-	26	8,7%	23	--	--	++	0	0,0%
9	+-	+-	++	8	2,7%	24	--	+-	--	0	0,0%
10	++	--	++	46	15,4%	25	+-	--	--	4	1,3%
11	+-	++	--	0	0,0%	26	--	--	+-	1	0,3%
12	--	++	+-	0	0,0%	27	--	--	--	0	0,0%
13	++	+-	--	0	0,0%						
14	+-	+-	+-	7	2,3%						
15	--	+-	++	0	0,0%						
						Totales				298	100,0%

DISCUSIÓN

El número de animales estudiados ($n=303$) y el tipo de muestreo realizado permiten obtener importantes conclusiones sobre las frecuencias génicas y genotípicas en la población de animales de raza 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 IV** con frecuencias génicas encontradas en rodeos individuales, publicadas 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 0,89 y 0,94) para rodeos Angus o con influencia Angus. Cabe destacar el valor de la frecuencia génica obtenida para la variante favorable del marcador Calpaína₃₁₆ ($f=0,294$) en los animales estudiados, frente a frecuencias génicas que varían de 0,20 a 0,25 para la mayoría de los rodeos Angus o con influencia Angus. En lo que respecta al marcador Calpaína₄₇₅₁, la frecuencia obtenida es la mayor encontrada en la bibliografía.

Tabla IV: Frecuencia génica para la variable más favorable en diferentes rodeos.

Marcador	Raza/Cruza	País	n	Muestreo	f	Referencia
CAST₂₉₅₉	Shorthorn	AU	298	rodeo	0,98	GeneNote 4, 2003
	Charolais x Angus	US	409	rodeo	0,94	van Eenennaam et al. 2007
	Angus de pedigree	ARG	303	población	0,916	Trabajo actual, 2008
	Angus	AU	1.078	rodeo	0,89	GeneNote 4, 2003
	Hereford	AU	733	rodeo	0,84	GeneNote 4, 2003
	Bos taurus (Ciclo VIII)	US	580	rodeo	0,83	Casas et al. 2006
	Bos taurus (Ciclo VII)	US	539	rodeo	0,80	Casas et al. 2006
	Santa Gertrudis	AU	1.014	rodeo	0,74	GeneNote 4, 2003
	Brahman (STARS)	US	444	rodeo	0,72	Casas et al. 2006
	Brahman	US	674	rodeo	0,66	van Eenennaam et al. 2007
	Hereford	US	322	rodeo	0,59	van Eenennaam et al. 2007
Brahman	AU	768	rodeo	0,57	GeneNote 4, 2003	
CAPN₁₃₁₆	Angus	US	213	rodeo	0,41	Page et al. 2004
	Angus de pedigree	ARG	301	población	0,294	Trabajo actual, 2008
	Hereford	US	309	rodeo	0,24	van Eenennaam et al. 2007
	Bos taurus (Ciclo VIII)	US	599	rodeo	0,24	White et al. 2005
	Charolais x Angus	US	435	rodeo	0,23	van Eenennaam et al. 2007
	Red Angus	US	307	rodeo	0,23	van Eenennaam et al. 2007
	Bos taurus (Ciclo VII)	US	532	rodeo	0,20	White et al. 2005
	Branagus	US	217	rodeo	0,18	van Eenennaam et al. 2007
	Brahman	US	674	rodeo	0,02	van Eenennaam et al. 2007
	Brahman (STARS)	US	470	rodeo	0,02	Casas et al. 2005
CAPN₁₄₇₅₁	Angus de pedigree	ARG	191	población	0,727	Trabajo actual, 2008
	Bos taurus (Ciclo VIII)	US	599	rodeo	0,64	White et al. 2005
	Bos taurus (Ciclo VII)	US	532	rodeo	0,58	White et al. 2005
	Branagus	US	217	rodeo	0,55	van Eenennaam et al. 2007
	Red Angus	US	307	rodeo	0,47	van Eenennaam et al. 2007
	Charolais x Angus	US	435	rodeo	0,46	van Eenennaam et al. 2007
	Hereford	US	309	rodeo	0,16	van Eenennaam et al. 2007
	Brahman (STARS)	US	470	rodeo	0,10	White et al. 2005
	Brahman	US	674	rodeo	0,06	van Eenennaam et al. 2007



Dado que ya existe información confiable, generada en el país y en el extranjero, sobre la utilidad de los tests para terneza con marcadores genéticos, 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 acerca a debatir la conveniencia de incluir, en el corto plazo, la información sobre los marcadores moleculares de terneza en el Programa ERA. En el futuro y con la finalidad de adecuar los estudios realizados en el país con los llevados a cabo en Estados Unidos y otros países exportadores de carne, estudiaremos un "cuarto marcador" de terneza: el SNP Calpastatina₁₀₆ (UoG-CAST), que ha sido recientemente validado, conjuntamente con los ya utilizados en este trabajo.

Este trabajo muestra cómo cada reproductor puede ser evaluado actualmente con "tres marcadores moleculares" asociados a terneza, 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 y/o son de difícil medición y/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 veteado o "marbling" (% grasa intramuscular). Cabe destacar que los marcadores moleculares indican una asociación con la característica de interés económico analizada, pero no explican 100% variación genética total. 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 terneza. ■ ■ ■