

Avilés, C.¹, Azor, P. J.¹, Álvarez, F.², Fernández, I.² Pérez, J. A.², Membrillo, A.¹, Dorado, G.³, Molina, A.¹

¹ Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Grupo de Investigación MERAGEM (PAI AGR-158).

² Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de Raza Retinta.

³ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.



Polimorfismos de los genes de la μ -calpaína y la calpastatina bovina en las razas de la dehesa

RESUMEN

La terneza de la carne es un factor determinante del nivel de satisfacción del consumidor. Sin embargo, la disminución de su elevada variabilidad es difícil de llevar a cabo por el gran número de factores genéticos y no genéticos que la determinan. De la misma forma su mejora está condicionada por la falta de criterios objetivos de selección, especialmente de aquellos que pueden ser realizados en el animal *in vivo*.

La identificación de marcadores genéticos en el bovino relacionada con el carácter terneza de la carne proporciona nuevos criterios de selección para facilitar la mejora genética de la calidad de la carne. Destacan en este sentido los genes responsables del complejo enzimático calpaína (μ y m-calpaína)-calpastatina. En diversas razas extranjeras se ha encontrado que variaciones en una sola base (SNP: *Single Nucleotide Polymorphism*) de estos genes pueden determinar variaciones en la terneza de la carne.

Los objetivos del presente estudio son la caracterización genética para los genes que codifican a los enzimas μ -calpaína (CAPN1) y calpastatina (CAST) de una muestra de las razas autóctonas que se están explotando en el suroeste español. Nuestros resultados muestran que las tres razas mayoritarias de la Dehesa española están en una situación muy favorable en cuanto al polimorfismo del gen CAPN1 y CAST con frecuencias génicas más altas de los alelos más propicios para la terneza de la carne que el resto de las razas analizadas. Así para el sitio 4.558 del gen CAPN1 las razas Retinta, Avileña y Morucha presentan unos porcentajes del alelo más favorable (G en este caso) del 66,7, 64 y 35 % respectivamente, para el gen CAST los resultados son aún más alentadores puesto que los porcentajes de alelos favorables son en el caso de la raza Retinta del 86%, Morucha 75% y Avileña 68,7%.

Una vez que sea realizada la comprobación de que dichos alelos tengan el efecto reseñado en las razas euro-

peas en las nuestras sería recomendable la utilización de estos marcadores como criterios de selección (MAS: *Molecular Assisted Selection*) *in vivo*, al menos en las tres razas maternas de la dehesa.

INTRODUCCIÓN

Para convertir en carne de calidad la compleja y sofisticada estructura que es el músculo esquelético (tejido especializado en funciones de sostén y locomoción), es preciso que ocurran entre otros fenómenos una serie de transformaciones fisicoquímicas que incluyen la desorganización y degradación de alguno de sus componentes. Estos cambios conducen a la fragmentación de las miofibrillas, que es la principal causa del aumento de la terneza en la carne.

Se sabe que el complejo enzimático calpaína-calpastatina es uno de los principales responsables de este proceso de conversión del músculo en carne. Dicho complejo involucra a tres proteínas endógenas del músculo: dos proteasas (calpaínas) y el inhibidor natural de las mismas, la calpastatina. Las calpaínas son cisteín-proteasas activadas por calcio, se conocen dos: la μ -calpaína (CAPN1) y la m-calpaína (CAPN2) que difieren en la concentración de calcio necesaria para que actúen (concentraciones μ M o mM de calcio). Por otra parte, existen diferencias genéticas descritas vinculadas a la calidad de la carne. Aunque en el caso del vacuno de carne la genética de este complejo ha sido ampliamente estudiada, no se ha encontrado bibliografía publicada a cerca de polimorfismos y frecuencias alélicas en las secuencias de los genes que codifican estas enzimas en las razas españolas así como tampoco se han encontrado referencias a cerca de la relación de éstas con la calidad de la carne de animales de nuestras razas autóctonas.

A pesar de existir menos estudios científicos a cerca de la vinculación del gen de la calpastatina y la terneza de la

carne que en el caso de los genes que codifican a las calpaínas, recientemente se ha demostrado no sólo que determinados alelos en ciertas mutaciones naturales de su secuencia contribuyen al enternecimiento de la carne (Schenkel *et al.*, 2006) sino que existen interacciones entre determinados loci de este gen y el de la μ -calpaína (Casas, 2006).

Dada la naturaleza indeleble de los marcadores genéticos, su carácter transmisible a la descendencia, el hecho de que puedan analizarse en el animal desde el nacimiento y acompañen a este a lo largo de toda su vida y no exijan el sacrificio del animal para obtenerlos, se considera que su utilización en la selección de reproductores (MAS), presenta grandes ventajas (mayor intensidad de selección, menor intervalo entre generaciones, etc., todo ello responsable de un mayor progreso genético).

Es por ello que este estudio presenta como principal objetivo el genotipado de una muestra de animales de razas maternas para los genes que codifican a dos de las enzimas implicadas en el complejo calpaína-calpastatina como paso previo (caso de encontrarse polimorfismos en estas razas) para analizar la asociación entre los alelos y genotipos encontrados y las características de calidad de la carne. A partir de ahí se podrán determinar los genotipos más favorables con vistas a una posible selección asistida por marcadores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo este estudio se han seguido los siguientes pasos:

Toma de muestras

Se han extraído muestras de las razas *Retinta*, *Avileña Negra Ibérica* y *Morucha*. Para hacer el análisis de comparación con otras razas bovinas se ha tomado material genético de otras razas autóctonas menos seleccionadas. De la misma forma se han incluido algunos animales de razas paternas especializadas de crecimiento elevado. En total se han muestreado 100 animales con la siguiente distribución (Tabla 1):

Tabla 1. Número de animales muestreados por raza

Tipo	Raza	N.º animales muestreados
Razas maternas mejoradas	Retinta	25
	Avileña Negra Ibérica	25
	Morucha	25
Razas maternas no mejoradas	Cárdena	5
	Berrenda en negro	5
	Pajuna	5
	Lidia	5
Razas paternas especializadas	Chianina	5

Extracción de ADN

El ADN genómico ha sido extraído de todos los animales a partir de las muestras biológicas obtenidas (sangre, pelo o músculo). En el caso de muestras de sangre el ADN se ha extraído utilizando el método *salting out* (Miller *et al.* en 1998) empleando *proteínasa K* para la digestión. En el caso de muestras de pelo el ADN se ha extraído de las células epiteliales de la raíz utilizando *proteínasa K* para la digestión y posterior purificación con fenol-cloroformo. Cuando las muestras se obtuvieron de músculo el material genético ha sido extraído utilizando un kit de extracción de *Qiagen*®.

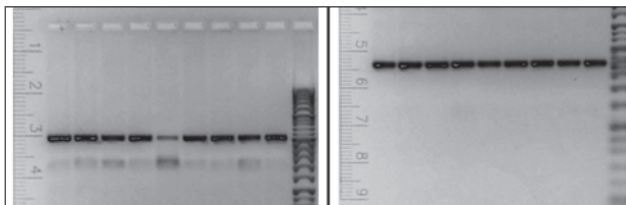
Adicionalmente se han obtenido las secuencias publicadas (Page *et al.*, 2004) de otras razas del grupo inglés (Hereford, Angus, etc.), o de doble aptitud europea (tipo Simmental o Gelbvieh).

Amplificación y secuenciación de los genes CAPN1 y CAST bovinos

Una vez obtenido el ADN de todas las muestras hemos amplificado tres fragmentos de ADN pertenecientes a los dos genes anteriormente descritos.

Las amplificaciones se han llevado a cabo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador Eppendorf® (Eppendorf AG, Hamburg, Alemania). Los amplicones han sido purificados y visualizados en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio (figura 1).

Figura 1: Productos de PCR correspondientes a la región analizada del gen CAST bovino en un gel de agarosa.

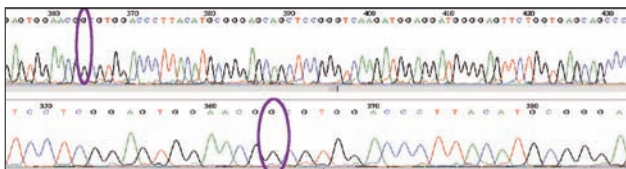


La reacción de secuenciación se ha realizado en un secuenciador automático capilar ABI 3730 (Applied Biosystems). En la figura 2 se puede observar el electroferograma de la secuencia de uno de los fragmentos de ADN estudiado.

Hemos amplificado y secuenciado dos regiones del gen CAPN1 bovino localizado en el cromosoma 29 (BTA29). La primera de ellas presenta una longitud de 669 pares de bases y la segunda secuencia contiene 765 pares de bases.

Para la búsqueda de polimorfismos en el gen CAST bovino que se encuentra localizado en el cromosoma 7 (BTA7) hemos amplificado una secuencia de 270 pares de bases.

Figura 2: Electroferograma de un fragmento del genoma bovino en el que se observa uno de los SNP en estudio



Los cebadores empleados han sido diseñados a partir de la aplicación informática *Primer3*®. Este programa trata de buscar parejas de cebadores que sean compatibles para amplificación mediante PCR, lo que implica que no formen dímeros, que tengan temperaturas de fusión (Tm) y contenido GC similares, etc.

Búsqueda de polimorfismos en los genes CAPN1 y CAST bovinos

Las tres secuencias correspondientes a los dos genes analizados han sido alineadas con el programa Sequencher v.4.6 (*Genes Codes Corporation, 2006*). Una vez alineadas y comparadas con secuencias publicadas en el GenBank se han detectado los sitios polimórficos y determinado los correspondientes genotipos.

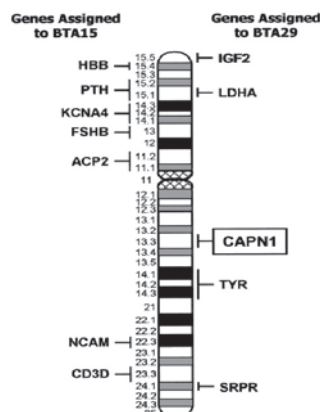
Los genotipos para los sitios polimórficos detectados han sido informatizados en una base de datos que fue utilizada para el cálculo de las frecuencias de aparición de cada uno de los alelos (SNPs) y para la comparación entre las razas analizadas y otras obtenidas del GenBank. Para ello se ha utilizado el programa informático *Statistica v. 6.0*®.

RESULTADOS

GEN CAPN1

Como se ha dicho anteriormente se han genotipado los 2 sitios polimórficos descritos en el gen que codifica a la subunidad mayor de la μ -calpaína (CAPN1):

Primer sitio polimórfico: CAPN1a



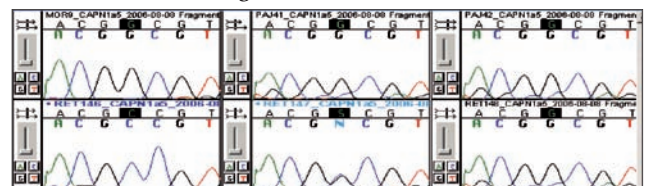
Está localizado en el cromosoma 29 bovino (BTA29) (Smith *et al.*, 2000), con número de acceso del GenBank AF252504. El SNP es una transversión C \rightarrow G en la posición 5.709 en el exón 9 de la secuencia del gen.

El alelo C en el SNP (posición 5.709) codifica el aminoácido alanina en la posición 316. El alelo G codifica el aminoácido glicina.

El fragmento resultante presenta una longitud de 669 pares de bases, lo que engloba casi tres exones, el 8, el 9 y parte del 10.

En la figura 3 se puede observar el electroferograma de la secuencia de ADN en la que se encuentra el SNP denominado CAPN1a, en él se puede determinar el alelo que cada animal posee en dicho sitio polimórfico. Así el animal RET146 es homocigoto para el alelo C, el MOR9, el PAJ 41, el PAJ42 y el RET148 son homocigotos para el alelo G y finalmente el individuo RET147 es heterocigoto C/G.

Figura 3. Electroferogramas del SNP detectado en el gen CAPN1 s1 bovino



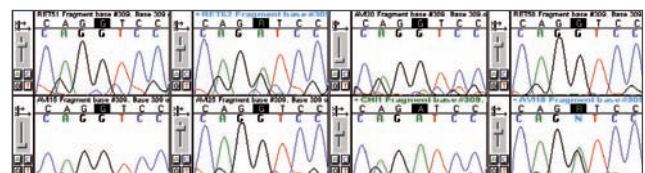
Segundo sitio polimórfico: CAPN1b

Está localizado en el cromosoma 29 bovino (BTA29). El SNP es una transición G \rightarrow A en la posición 4.558 en el exón 14 de la secuencia del gen CAPN1 (número de acceso del GenBank AF248054). El alelo G codifica (posición 4.558) el aminoácido valina. El alelo A del SNP codifica el aminoácido isoleucina en la posición 530.

El fragmento resultante que hemos amplificado en este caso posee 765 pares de bases y comprende los exones e intrones 13 y 14.

En la figura 4 se pueden observar ejemplos de los electroferogramas de un fragmento de la secuencia que contiene el SNP CAPN1b situado en la posición 4.558 donde el animal CHI1 es homocigoto para el alelo A, los animales RET51, AVI20, RET58, AVI15 y AVI25 son homocigotos para el alelo G y los animales RET62 y AVI18 son heterocigotos.

Figura 4. Electroferogramas del SNP detectado en el gen CAPN1 s2 bovino



En la tabla 2 se muestran las frecuencias alélicas de aparición para cada sitio del gen CAPN1 en las razas estudiadas. El primero de ellos, ubicado en la posición 5.709 de la subunidad s1, no presenta grandes diferencias por razas mientras que el SNP situado en la posición 4.558 de la subunidad s2 sí que posee porcentajes de aparición más variables en función de la raza.

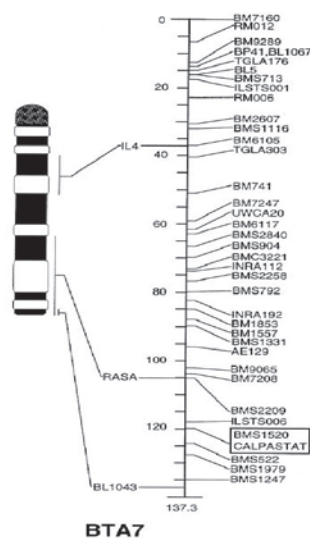
Tabla 2: Frecuencias alélicas para cada uno de los sitios estudiados en los dos fragmentos amplificados del gen CAPN1 en las distintas razas

		RET	MOR	AVI	PAJ	TLI	BR	CAR	CHI	TOTALES
CAPN1 a (5.709)	C	0,295	0,175	0,104	0,125	0,250	0,000	0,000	0,000	0,161
	G	0,705	0,825	0,896	0,875	0,750	1,000	1,000	1,000	0,839
CAPN1 b (4.558)	G	0,667	0,350	0,640	0,000	1,000	0,600	0,375	0,250	0,563
	A	0,333	0,650	0,360	1,000	0,000	0,400	0,625	0,750	0,437

RET: Retinta, MOR: Morucha, AVI: Avileña. PAJ: Pajuna, TLI: Toro de lidia, BR: Berrenda en negro, CAR: Cárdena Andaluza, CHI: Chianina.

Gen CAST

Tercer sitio polimórfico: CAST



Está localizado en el cromosoma 7 bovino (BTA7).

El SNP es una transversión C → G en la posición 282 en el intrón 5 de la secuencia del gen «calpastatin» con número de acceso del Gen-Bank AY008267.

El fragmento amplificado resultante presenta una longitud de 270 pares de bases.

En la tabla 3 se muestran las frecuencias en el SNP detectado en la posición 282 del gen CAST. Como observamos las frecuencias de presentación oscilan entre el 86 y el 50 % con una media en todas las razas del 77% para el alelo C y entre el 14 y el 50% con una media del 23% para el alelo G.

Finalmente se ha realizado una comparación de las diferentes razas analizadas a partir de las frecuencias alélicas obtenidas en cada uno de los 3 sitios analizados. Ésta ha llevado a cabo utilizando el test de máxima verosimilitud de Chisq:

La comparación de las 3 razas maternas de fomento ligadas a la dehesa española muestra un mayor porcentaje de animales con alelos favorables (alelo C) en el caso de la raza Retinta y menor en la Avileña para el sitio 1 del gen CAPN1 sin que estas lleguen a ser estadísticamente significativas (tabla 4). En el sitio 2 de este gen, sí existen diferencias estadísticamente significativas (nivel de confianza del 95%), siendo también la raza Retinta la que presenta un mayor porcentaje de alelos favorables (G en este caso), frente a Avileña y Morucha (66,7, 64 y 35 % respectivamente).

Estas frecuencias determinan de forma global para las 3 razas unas frecuencias génicas de 0,191 y 0,809 para el alelo C y G respectivamente del gen CAPN1a, 0,594 y 0,406 para los alelos G y A del sitio CAPN1b y 0,787 y 0,213 respectivamente para los alelos C y G del gen CAST. A la vista de estas frecuencias génicas, es evidente que el gen CAPN1a es el principal objetivo de selección, seguido del CAPN1b. En cambio la situación de estas poblaciones para el gen CAST es muy favorable (una frecuencia significativamente superior del alelo que determina una carne más tierna).

Así, si consideramos sólo el primer gen y las poblaciones en equilibrio Hardy-Weinberg el genotipo más adecuado (CC) se encontraría entorno al 4% de los animales (9% en el caso de la raza Retinta, un 1 % en Avileña y de un 3,6% en Morucha).

Finalmente el análisis de las frecuencias de los alelos presentes en el gen CAST para estas razas (tabla 5) ha determinado un mayor porcentaje de alelos favorables en el caso

Tabla 3: Frecuencias alélicas para el sitio 282 del gen CAST para las diferentes razas.

		RET	MOR	AVI	PAJ	TLI	BR	CAR	CHI	TOTALES	
CAST	282	C	0,864	0,750	0,688	0,667	0,500	0,500	1,000	—	0,770
		G	0,136	0,250	0,313	0,333	0,500	0,500	0,000	—	0,230

RET: Retinta, MOR: Morucha, AVI: Avileña. PAJ: Pajuna, TLI: Toro de lidia, BR: Berrenda en negro, CAR: Cárdena Andaluza, CHI: Chianina.

Tabla 4: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAPN1 de las razas maternas selectas españolas

RAZA		Capn1a			Capn1b		
		Alelo G	Alelo C	Total	Alelo A	Alelo G	Total
RETINTA	n	31	13	44	12	24	36
	%	70,45	29,55		33,33	66,67	
AVILEÑA	n	43	5	48	18	32	50
	%	89,58	10,42		36,00	64,00	
MORUCHA	n	33	7	40	13	7	20
	%	82,50	17,5		65,00	35,00	
Total		107	25	132	43	63	106

Chi-² M-L=16,416 p=0,117^{ns}

Tabla 5: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAST de las razas maternas selectas españolas

RAZA		Cast		
		Alelo G	Alelo C	Total
RETINTA	n	38	6	44
	%	86,36	13,64	
AVILEÑA	n	11	5	16
	%	68,75	31,25	
MORUCHA	n	36	12	48
	%	75,00	25,00	
Total		85	23	108

Chi-² M-L= 2,947 P= 0,229^{ns}

de la raza Retinta del 86%, Morucha 75% y Avileña 68,7% sin apreciar diferencias estadísticamente significativas.

El análisis estadístico de **comparación entre la raza de la dehesa y el resto de razas maternas no seleccionadas** ha determinado la inexistencia de diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de razas para el gen CAPN1 (tabla 6). Aunque se puede apreciar que existe prácticamente el doble del porcentaje de animales con el alelo C (CAPN1a) en la población de razas maternas selectas en relación a las no seleccionadas. Esto implica, de confirmarse la correlación entre el alelo C y una mayor terneza de la carne, (a igualdad de maduración de la canal) que las razas como la Berrenda, Pajuna etc. estarían en peor situación que la Avileña, Retinta o Morucha, y que para que su carne presentase un buen nivel de terneza, su canal debería mantenerse un mayor número de días madurando. Este mismo hecho se da si se tiene en cuenta el porcentaje de animales con el alelo G en el sitio CAPN1b (ligado en otras razas a una mayor terneza), aunque en este caso las diferencias entre ambos grupos de razas son menos importantes.

Tabla 6. Frecuencias de los alelos analizados del gen CAPN1 de las razas maternas selectas españolas y las no seleccionadas

TIPO		Capn1a			Capn1b		
		Alelo G	Alelo C	Total	Alelo A	Alelo G	Total
DEHESA	n	107	25	132	43	63	106
	%	81,06	18,94		40,57	59,43	
OTRAS MATERNAS ESPAÑOLAS	n	29	3	32	13	15	28
	%	90,63	9,38		46,43	53,57	
Total		136	28	164	56	78	134

Chi-² M-L= 2,266 P= 0,519^{ns}

Si tenemos en cuenta la situación en cuanto al gen CAST (tabla 7), con un mayor porcentaje de animales con el alelo G de las razas autóctonas en peligro en relación a las de fomento, la situación sigue siendo desfavorable para las primeras, dado que en este gen los estudios realizados en otras razas muestran una mayor ternera en el caso del alelo C.

Tabla 7: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAST de las razas maternas selectas españolas y las no seleccionadas

RAZA		Cast		
		Alelo G	Alelo C	Total
DEHESA	n	85	23	108
	%	78,70	21,30	
OTRAS MATERIAS ESPAÑOLAS	n	9	5	14
	%	64,29	35,71	
Total		94	28	122
Chi- ² M-L= 1,332 P= 0,248 ^{ns}				

Por lo tanto a pesar de que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas (probablemente por el pequeño tamaño muestral usado en el caso de las razas maternas en peligro) se puede afirmar que genéticamente existe una mejor predisposición para la ternera en el caso de las razas Avileña, Morucha y Retinta que en el resto de razas maternas analizadas.

La comparación con algunas de las razas continentales europeas especializadas en crecimiento (generalmente en crecimiento magro) también determina una situación más favorable a las razas maternas, siendo este caso las diferencias estadísticamente significativas al 99% en el caso del gen CAPN1. Así en la tabla 8 se puede observar como estas presentan un mayor porcentaje del alelo más favorable con un 18,9% frente a las continentales

Tabla 8: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAPN1 de las razas maternas selectas españolas y las razas continentales europeas especializadas

TIPO		Capn1a			Capn1b		
		Alelo G	Alelo C	Total	Alelo A	Alelo G	Total
DEHESA	n	107	25	132	43	63	106
	%	81,06	18,94		40,57	59,43	
ESPECIALIZADAS CONTINENALES	n	85	5	90	43	45	88
	%	94,44	5,56		48,86	51,14	
Total		192	30	222	86	108	194
Chi- ² M-L= 11,411 P= 0,0097**							

5,5% en el sitio CAPN1a (alelo C) y un 59,4% frente al 51,1% en el sitio CAPN1b (alelo G). Esto podría explicar parte de la mayor dureza atribuida a las razas continentales cuando se explotan en pureza (también la ventaja del cruzamiento industrial con las razas maternas españolas).

Los resultados en cuanto al gen CAST, no han sido estadísticamente significativos (tabla 9), si bien se mantiene la tónica de una mayor frecuencia del alelo más favorable (en este caso el C) en las razas maternas de la dehesa.

Tabla 9: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAST de las razas maternas selectas españolas y las razas continentales europeas especializadas

TIPO		Cast		
		Alelo G	Alelo C	Total
DEHESA	n	85	23	108
	%	78,70	21,30	
ESPECIALIZADAS CONTINENALES	n	52	20	72
	%	72,22	27,78	
Total		137	43	180
Chi- ² M-L= 0,988 P= 0,320 ^{ns}				

Por lo tanto también este caso se puede afirmar que genéticamente existe una mejor predisposición para la ternera en el caso de las razas Avileña, Morucha y Retinta que las razas continentales de mayor crecimiento magro.

A pesar de contar con muy pocos datos se planteó la comparación de nuestras 3 razas principales con razas de doble propósito europeas (Simmental y Gelbvieh). En el caso del gen CAPN1 (tabla 10) se puede observar que nuestras razas tienen una mayor frecuencia del alelo más favorable (C del CAPN1a y G del CAPN1b) estadísticamente superior a las razas de doble propósito.

Tabla 10: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAPN1 de las razas maternas selectas españolas y las razas de doble aptitud europeas

TIPO		Capn1a			Capn1b		
		Alelo G	Alelo C	Total	Alelo A	Alelo G	Total
DEHESA	n	107	25	132	43	63	106
	%	81,06	18,94		40,57	59,43	
DOBLE APTITUD EUROPEAS	n	70	4	74	45	29	74
	%	94,59	5,41		60,81	39,19	
Total		177	29	206	88	92	180
Chi-² M-L= 16,460 p= 0,0091**							

En el caso del gen CAST la situación es aún mucho más favorable para nuestras razas autóctonas (tabla 11).

Tabla 11: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAST de las razas maternas selectas españolas y las razas de doble aptitud europeas

TIPO		Cast		
		Alelo G	Alelo C	Total
DEHESA	n	85	23	108
	%	78,70	21,30	
DOBLE APTITUD EUROPEAS	n	12	21	14
	%	36,36	63,64	
Total		97	44	141
Chi-² M-L= 19,929 P= 0,00001***				

Finalmente realizamos un **análisis comparativo con razas inglesas** (Angus, Hereford y Red Angus), que se caracterizan por su menor crecimiento y mayor grado de engrasamiento que las nuestras, pero a la que se le atribuye en cambio un elevado nivel de terneza.

Los resultados obtenidos muestran que existen diferencias estadísticamente significativas (tabla 12) entre ambos

grupos de razas, con un mayor porcentaje de alelos favorables para la terneza en el caso de las razas inglesas (alelo C del gen CAPN1a y G del gen CAPN1b). En cambio las frecuencias de los alelos para el gen CAST (tabla 13) muestran un porcentaje superior para el alelo C (relacionado con la terneza) en el caso de las razas españolas (aunque estas diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas).

Tabla 13: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAST en las razas maternas selectas españolas y en las razas cárnicas inglesas

TIPO		Cast		
		Alelo G	Alelo C	Total
DEHESA	n	85	23	108
	%	78,70	21,30	
CÁRNICAS INGLESAS	n	15	9	24
	%	62,50	37,50	
Total		100	32	132
Chi-² M-L= 2,607 P= 0,106^{ns}				

Tabla 12: Frecuencias de los alelos analizados del gen CAPN1 de las razas maternas selectas españolas y las razas cárnicas inglesas.

TIPO		Capn1a			Capn1b		
		Alelo G	Alelo C	Total	Alelo A	Alelo G	Total
DEHESA	n	107	25	132	43	63	106
	%	81,06	18,94		40,57	59,43	
CÁRNICAS INGLESAS	n	81	35	116	15	99	114
	%	69,83	30,17		13,16	86,84	
Total		188	60	248	58	162	220
Chi-² M-L= 27,31 P= 0,00001***							

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en los genes que codifican a la μ -calpaína y la calpastatina en este estudio y a falta de comprobar la asociación en nuestras razas de estos alelos con la actividad enzimática calpaína-calpastatina y la terneza de la carne, podemos concluir que nuestras 3 razas maternas ligadas a la dehesa están en una situación muy favorable en relación al resto de razas analizadas. No obstante, dada la baja frecuencia (< 20%) del alelo más favorable del sitio 1 del gen CAPN1 (alelo C) recomendamos que sea incluido en el proceso selectivo de estas 3 razas este marcador. En el caso del sitio 2 de este mismo gen, no sería tan prioritario su inclusión dado que la frecuencia del alelo G está próxima al 60%. En el caso del gen CAST, el alelo que se presenta en nuestras razas de forma mayoritaria es el más favorable (alelo C, con más del 75% de los animales), por lo que tampoco recomendamos su utilización en el proceso selectivo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la **Dirección General de Ganadería** del MAPA a través del estudio técnico «**Detección de la variabilidad de determinados genes y su relación con parámetros de calidad de la carne en las razas bovinas autóctonas maternas españolas**».

Los autores quieren agradecer a la Asociación Española de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de Raza Avile-

ña - Negra Ibérica y a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno de Raza Morucha Selecta su colaboración en el presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Casas, E., White, S. N., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, C. C. Jr., Johnson, D. D. and Smith T. P. L. 2006. Effects of *calpastatin* and μ -*calpain* markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.* 2006. 84:520-525.
- Miller, S. A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16: 1215.
- Page, B. T., E. Casas, R. L. Quaas, R. M. Thallman, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, S. N. White, G. L. Bennett, J. W. Keele, M. E. Dikeman, and T. P. L. Smith. 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.
- Schenkel, F. S., Miller, S. P., Jiang, Z., Mandell, I. B., Ye, X., Li, H. and Wilton, J. W. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:291-299.
- Smith T. P. L., E. Casas, C. E. Rexroad III, S. M. Kappes, and J. W. Keele Bovine *CAPN1* maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *J. Anim. Sci.* 2000. 78:2589-2594.

Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de Raza Retinta



Murcia, 5 - 1.º A - 28045 Madrid
Tel. 91 468 22 05 - Fax: 91 467 80 00
Email: razaretinta@retinta.es