

ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS CAPN316, CAPN4751 Y CAST2959: RELACIÓN CON LA TERNEZA DE LA CARNE EN EL GANADO CRIOLLO LIMONERO

Study of CAPN316, CAPN4751 and CAST2959 Polymorphisms: Relationship With Meat Tenderness in Criollo Limonero Cattle

Paola Virginia Torres-Rodríguez ^{1*}, José Atilio Aranguren-Méndez ¹, María Gabriela Portillo-Ríos ¹, Inioska Margarita Rojas ² y Rosa Chango-Oduber ¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias-LUZ. ²Facultad de Veterinaria-UCV. *paolatorres1987@gmail.com

RESUMEN

Con el objeto de caracterizar genéticamente un rebaño bovino Criollo Limonero (CL) en función del polimorfismo genético de la Calpaína (CAPN) y la Calpastatina (CAST) en el estado Zulia, Venezuela, fue extraído ADN a partir de muestras sanguíneas tomadas de 155 animales CL para el genotipado del gen CAPN y CAST, mediante el Sistema de Amplificación refractaria a la Mutación o ARMS (CAPN316, CAPN4751) y el método de Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos de Restricción o RFLP (CAST2959). Para el sitio CAPN316, el rebaño presentó los alelos C y G, con frecuencias alélicas de 0,06 y 0,94, respectivamente, y genotípicas de 0,00 (CC); 0,12 (CG) y 0,88 (GG). El sitio CAPN4751 presentó los alelos C y T, con frecuencias alélicas de 0,49 y 0,51, respectivamente, y genotípicas de 0,16 (CC); 0,65 (CT) y 0,19 (TT). El sitio CAST2959 evidenció los alelos A y G, con frecuencias alélicas de 0,69 y 0,31, respectivamente, y genotípicas de 0,53 (AA); 0,32 (AG) y 0,15 (GG). Una selección a favor de genotipos AA y AG en CAST2959, sería la más apropiada para aumentar su frecuencia en la población y mejorar la calidad de la carne en el rebaño. Se sugiere la selección de genotipos CC y CT en CAPN4751, además de individuos con haplotipos CAPN316/4751 C/C y C/G.

Palabras clave: Terneza de la carne, ganado, PCR, mejoramiento genético.

ABSTRACT

In order to characterize genetically an Criollo Limonero herd (CL) based on the genetic polymorphism of Calpain (CAPN) and Calpastatin (CAST) in Zulia State, Venezuela, DNA was

extracted from blood samples taken from 155 CL animals for genotyping of gene CAPN and CAST by Amplification Refractory Mutation System or ARMS (CAPN316, CAPN4751) and Restriction Fragment Length Polymorphism or RFLP method (CAST2959). Animals showed C and G alleles in CAPN316 site, with allele frequencies of 0.06 and 0.94, respectively, and genotypic frequencies of 0.00 (CC), 0.12 (CG), and 0.88 (GG). CAPN4751 site presented C and T alleles, with allele frequencies of 0.49 and 0.51, respectively, and genotypic frequencies of 0.16 (CC); 0.65 (CT) and 0.19 (TT). CAST2959 site showed A and G alleles, with allele frequencies of 0.69 and 0.31, respectively, and genotypic frequencies of 0.53 (AA), 0.32 (AG) and 0.15 (GG). A selection for genotypes AA and AG in CAST2959 would be most appropriate to increase their frequency in the population and improve the quality of meat in the herd. Selecting genotypes CC and CT in CAPN4751 in addition to individuals with haplotype CAPN316 / 4751 C / C and C / G, is also suggested.

Key words: Meat tenderness, cattle PCR, genetic improvement.

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Criollo Limonero (CL) representa uno de los recursos genéticos más importantes del país, y sus orígenes se remontan a épocas de la conquista, producto de la introducción de animales provenientes del continente Europeo, los cuales con el tiempo lograron adaptarse a las condiciones ambientales [26]. Perteneciente a la especie *Bos taurus*, el ganado CL constituye un recurso de inestimable valor, ya que posee las cualidades de producción, fertilidad y precocidad, y además cuenta con la rusticidad, adaptación y resistencia que el tiempo le ha conferido, otorgándole niveles significativos de producción láctea, además de ser utilizado como ganado do-

ble propósito [22, 25]. Desafortunadamente, entre las desventajas resaltan el censo reducido de esta raza y los pocos estudios sobre su comportamiento productivo, lo cual ha captado la atención de diferentes organismos durante varios años.

Entre los parámetros o atributos que inciden sobre la elección de la carne al momento de su adquisición y consumo, resaltan la *apariencia visual* (color de la carne y de la grasa, consistencia, textura, cantidad de grasa extra-muscular, mármoleo y exudado), calidad comestible (jugosidad, ternera, aroma, sabor) y *otros factores como* precio, tamaño de la porción, facilidad y forma de preparación, envasado e información sobre el valor nutritivo, de salud y seguridad [23].

En este sentido, la ternera es uno de los factores más importantes, ya que determina grandes variaciones en la palatabilidad del producto final [16], por lo que dicha característica en los últimos años ha tenido gran atención científica debido a su variación genética y la dificultad de obtener datos fenotípicos, que necesariamente requieren el sacrificio de los animales [19]. Por esta razón es necesario el desarrollo de herramientas no invasivas que faciliten su mejoramiento.

En la búsqueda de las razones que explican los cambios asociados a la ternera de la carne, se ha determinado como principal responsable al sistema proteolítico de las Calpaínas y Calpastatina, el cual actúa en la degradación *post-mortem* de las proteínas estructurales del músculo [18, 20], siendo la Calpastatina una enzima que interviene en la regulación de la actividad de las Calpaínas mediante la inhibición de su efecto [27]. En este punto, varios estudios han logrado demostrar la asociación significativa de marcadores genéticos dentro de los genes involucrados que codifican dichas proteínas con características como ternera de la carne [5, 13, 15, 17, 21], por lo que el objetivo de esta investigación fue caracterizar el ganado CL en función de polimorfismos específicos encontrados en estos genes mediante las técnicas Sistema de Amplificación refractario a la Mutación (ARMS) y Polimorfismos en la longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP) para determinar su uso potencial en los planes de selección como germoplasma mejorador de la ganadería venezolana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y obtención del ADN

El estudio de los polimorfismos CAPN316, CAPN4751 y CAST2959, fue llevado a cabo en un grupo de 155 bovinos de la

raza CL, pertenecientes a un rebaño de animales puros localizado en la estación local Carrasquero adscrita al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) del municipio Mara, Edo. Zulia, Venezuela. Los análisis genéticos se realizaron en el laboratorio de Genética Molecular (LGM) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia.

El ADN genómico fue obtenido de leucocitos a través de muestras de sangre tomadas a los animales en la vena coccígea, colectadas en tubos de ensayo con Ácido Etildiaminotetraacético (EDTA). La extracción del ADN se realizó mediante la técnica fundamentada en la lisis celular y extracción con la mezcla fenol: cloroformo: alcohol isoamílico en proporción 25:24:1 [1].

Marcadores genéticos utilizados

El polimorfismo CAPN316 (Genebank AF248054) consiste en una transversión que implica la sustitución de bases nitrogenadas Citosina/Guanina (C/G) y a su vez se traduce en un cambio aminoacídico de glicina por alanina en la cadena aminoacídica de la Calpaína, mientras que el marcador CAPN4751 se encuentra en el intrón # 18 de la región regulatoria del mismo gen [27], siendo el resultado de una inserción/eliminación de Citosina/Timina (C/T) [6]. El estudio de ambos marcadores fue llevado a cabo mediante el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa-Sistema de Amplificación Refractaria a la Mutación o PCR-ARMS, el cual permitió la amplificación de fragmentos de 446 y 334 pares de base (pb), respectivamente, para esto se utilizó un juego de cuatro cebadores específicos para cada sitio, CAPN1: CAAF, CAAR, CPN1AINNF y CPN1AINNR, mientras que para CAPN4751: CPN4751F, CPN4751R, CPN4751INNF y CPN4751INNR (Operon®) (TABLA I), seleccionados a partir de secuencias reportadas por Rincón y Medrano [21].

En el mismo orden de ideas, el polimorfismo CAST2959 (Genebank AF159246), el cual se ubica en la región no traducida 3' del gen de la Calpastatina (CAST), consta de una transición entre Adenina/Guanina [3], y requirió la amplificación de fragmentos de ADN con un peso molecular de 375 pb, con el uso de un par de cebadores específicos denominados CASTF, CASTR (TABLA I), tomados de experimentos reportados por Li y col. [17].

TABLA I
MARCADORES Y CEBADORES UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

Marcador	Forward	Reverse	E. de restricción
CAPN316	CAAF: 5' gctgtgccaccctacca gcatc 3'	CAAR: 5' caggttgcatatctcca ggccg 3'	—
	CPN1AINNF: 5'ttctctgcagctcc tcggagtgaaggg3'	CPN1AINNR: 5'gctcccgcagtg taaggtccaggg 3'	
CAPN4751	CPN4751F:5'cctggagtcctgccgcagcatgtcaacc3'	CPN4751R:5'aagctgcaggagctgccaaagccagg3'	—
	CPN4751INNF:5'gcactctcccctgactgggggaaacc3'	CPN4751INNR: 5' gtcacttgac acagccctgcgccga 3'	
CAST2959	CASTF: 5'acattctcccaca gtgcc3'	CASTR: 5'gacagagtctgcttt tgctc 3'	Ddel

Condiciones de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y genotipado

Este proceso se llevó a cabo en un termociclador (Mastercycler epgradient eppendorf, EUA), estableciendo para CAPN316 y CAPN4751 una primera fase de desnaturalización a 94°C durante 2 min, seguida de veintisiete ciclos compuestos por una fase de desnaturalización a 94°C durante 30 seg, una de hibridación a 60°C (59°C para CAPN4751) por 30 seg y finalmente, una fase de extensión de la cadena a 72°C durante 30 seg. El programa térmico finalizó con una extensión a 72°C durante 10 min.

El genotipado de los animales para estos marcadores se llevó a cabo a través del método PCR-ARMS utilizando dos pares de cebadores específicos en la reacción de PCR, y visualizando los genotipos en geles de agarosa al 2,4% elaborados con agarosa diluida en una solución tampón TAE 1X (Tris-EDTA-Ácido Acético, pH 8,1), en una cámara horizontal Fisher Scientific Electrophoresis Systems, modelo FB-SB-1316, EUA. Una vez finalizada la electroforesis, los geles fueron teñidos con bromuro de etidio (solución 2 µg/mL) permitiendo la unión de este reactivo con el ADN para emitir fluorescencia, y observar los genotipos en un transluminador de luz UV (Telstar Mini-V/PCR, EUA).

Para el genotipado del sitio CAST2959 se utilizó el programa de amplificación según Li y col. [18], con las modificaciones descritas a continuación: una primera fase de desnaturalización a 94°C durante 5 min, seguida de cuarenta ciclos compuestos por una fase de desnaturalización a 94°C durante 30 seg, una de hibridación a 62°C por 30 seg y finalmente, una fase de extensión de la cadena a 72°C durante 40 seg. El programa térmico finalizó con una extensión a 72°C durante 10 min. La determinación de las variantes alélicas para este marcador fue realizada bajo la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa-Polimorfismos en la Longitud de los Fragmentos de Restricción o PCR-RFLP, sometiendo los productos amplificados a una digestión con la enzima *Ddel* (Promega®), incubándolos por 4-5 horas a 37°C, respectivamente, según la metodología de Li y col. [17]. Los genotipos se determinaron a través de electroforesis en geles de agarosa al 2%, la visualización fue descrita anteriormente.

Análisis estadístico

La determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas se llevó a cabo por conteo directo. Posteriormente, para determinar si existían diferencias en cuanto al equilibrio poblacional de Hardy y Weinberg (EHW) se utilizó la ecuación $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$, donde:

p^2 = frecuencia de genotipos homocigotos con un polimorfismo n .

$2pq$ = frecuencia de genotipos heterocigotos.

q^2 = frecuencia de homocigotos con un polimorfismo m .

Las diferencias en frecuencias alélicas fue determinada utilizando la ecuación de Ji cuadrado $X^2 = \sum (O - E)^2 / E$, donde:

O = valor observado, E = valor esperado

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Polimorfismos estudiados

La técnica de PCR-ARMS con el marcador CAPN316 reveló la diferenciación de los alelos C y G, representados por los genotipos CC con la presencia de dos bandas con pesos moleculares de 446 y 228 pb; CG con 3 bandas de 446, 269 y 228 pb, y GG con dos bandas de 446 y 269 pb, respectivamente (FIG 1).

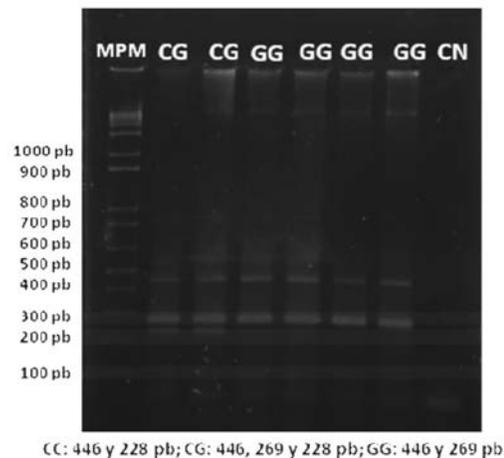


FIGURA 1. PCR-ARMS. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA AL 2,4%. POLIMORFISMO ALELICO CAPN316 (MPM: MARCADOR DE PESO MOLECULAR, PB: PARES DE BASE, CN: CONTROL NEGATIVO).

Las frecuencias alélicas para el marcador CAPN316 fueron 0,06 y 0,94 para los alelos C y G, respectivamente, con frecuencias genotípicas para CC de 0,00, para CG de 0,12 y para GG de 0,88, revelando que la población se encuentra en equilibrio EHW (TABLA II).

En esta investigación, el análisis del marcador CAPN316 reflejó un elevado porcentaje del alelo G, con ausencia de individuos CC y apenas un 0,12 de CG. Estos resultados son similares a los valores reportados en las razas Pinzgauer y Charolais [12], Canchim y Braunvieh [8], donde se observaron frecuencias de 0,08 y 0,92; 0,16 y 0,84; 0,08 y 0,92; 0,07 y 0,93 para los alelos C y G, respectivamente, con valores del genotipo CG que oscilan entre 0,10 – 0,15. Estudios previos indican que el genotipo CC para CAPN316 ha sido exitosamente asociado con la predisposición de producir carne más tierna. Sin embargo, la mayoría de los casos revelan una frecuencia muy baja de este genotipo, tanto en *Bos taurus* como *Bos indicus*, y particularmente en esta última especie incluso se habla de fijación del alelo desfavorable a ternera [6, 8, 12, 26]. Otros estudios al obtener frecuencias del alelo C cerca de 0,45 y un mayor porcentaje de genotipos CG, recomiendan el uso de este marcador y confirman su potencial en algunas razas específicas del genero *Bos taurus* y cruces *Bos taurus* x *Bos indicus* [2, 7, 11].

Finalmente, partiendo de que las frecuencias bajas con relación al genotipo favorable afectan los estudios de asociación entre polimorfismos y rasgos de interés [8], sería lógico pensar en la búsqueda de otros marcadores que reflejen mayor variabilidad en esta raza, y por ende que justifiquen su inclusión en la implementación de planes de mejora genética. Aun así, se recomendaría incluir los genotipos heterocigotos detectados en el estudio, en centros de cría, con el fin de aumentar la frecuencia del alelo favorable.

Para el caso del marcador CAPN4751 se observó la presencia de los alelos C y T, con los genotipos CC representado por dos bandas de 334 y 158 pb, CT con tres bandas de 334, 231 y 158 pb y TT con dos bandas de 334 y 231 pb, respectivamente (FIG. 2).

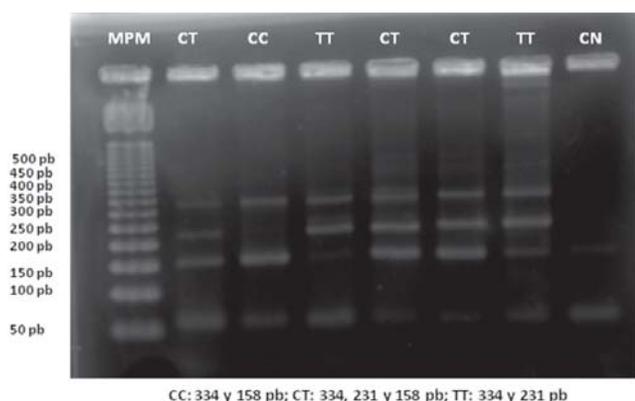


FIGURA 2. PCR-ARMS. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA AL 2,4%. POLIMORFISMO ALELICO CAPN4751 (MPM: MARCADOR DE PESO MOLECULAR, PB: PARES DE BASE, CN: CONTROL NEGATIVO).

En el análisis del marcador CAPN4751 se observó que las frecuencias genotípicas obtenidas fueron 0,16; 0,65 y 0,19 para los genotipos CC, CT y TT, respectivamente. Los animales con el alelo C representaron el 49% de la población, mientras que los animales con el T constituyeron el 51 %, no encontrándose en equilibrio EHW (TABLA II).

La similitud en las frecuencias alélicas para C (0,49) y T (0,51) en el análisis con el marcador CAPN4751 concuerdan con los resultados obtenidos en experimentos anteriores en las razas Angus rojo [10], Charolais [4, 18] y sus cruces [7],

en los cuales se observaron frecuencias similares entre los alelos C y T (0,46 y 0,54; 0,42 y 0,58; 0,49 y 0,51, respectivamente), destacándose el genotipo heterocigoto en la población (CT = 0,65).

En contraste, algunos autores obtuvieron frecuencias elevadas del alelo C (reportado como responsable de carnes tiernas), en razas como Angus [14], Nguni [11], Senepol [4], Pinzgauer y Charolais [12], en las cuales los genotipos CC y CT fueron predominantes. La hipótesis planteada en base a los resultados obtenidos en este estudio hace referencia a la gran diversidad genética existente en el ganado CL revelada en un estudio realizado por Villasmil-Ontiveros y col. [24], producto de la mezcla de una gran cantidad de razas puras españolas en su origen, lo que posiblemente explicaría el alto porcentaje de individuos heterocigotos para este marcador.

Resalta el manejo que se ha dado a la explotación que cuenta con el mayor número de animales de esta raza (Estación Local Carrasquero adscrita al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIA, Zulia-Venezuela), el cual ha comprendido un sistema de apareamientos entre familias estructuradas de manera tal que ha permitido mantener con éxito la diversidad genética, mientras que la consanguinidad del rebaño ha permanecido en niveles mínimos inferiores a 0,01 [26]. Esta condición podría ser provechosa en la implementación de planes y herramientas de mejoramiento genético, con el fin de seleccionar los genotipos favorables para terneza.

El estudio del polimorfismo CAST2959 se llevó a cabo mediante la técnica de Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos de restricción (RFLP), la cual permitió la diferenciación de los alelos A y G en el fragmento de 375 pb del marcador CAST2959, con la presencia de los genotipos AA con dos bandas de 244 y 131 pb, AG con tres bandas de 375, 244 y 131 pb y GG con una banda de 375 pb respectivamente, luego de la digestión con la enzima de restricción *DdeI* (FIG. 3).

En el análisis del marcador CAST2959 la raza Criollo Limonero presentó frecuencias alélicas de 0,69 y 0,31 para los alelos A y G, con frecuencias genotípicas de 0,53; 0,32 y 0,15 para los genotipos AA, AG y GG respectivamente, y al someterse a la prueba de χ^2 resultó que no están en equilibrio EHW (TABLA II).

En el análisis del marcador CAST2959 destaca la elevada frecuencia del alelo A, aunado a la distintiva cantidad de los genotipos homocigotos AA. Se observaron frecuencias alélicas que oscilan alrededor de 0,60 con respecto al alelo A en las ra-

**TABLA II
FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE LOS MARCADORES CAPN316, CAPN4751 y CAST2959**

Marcador	N	Frecuencias alélicas		Frecuencias genotípicas		
		C	G	CC	CG	GG
CAPN316	155	0,06	0,94	0,00	0,12	0,88
CAPN4751	155	0,49	0,51	0,16	0,65	0,19
CAST2959	155	0,69	0,31	0,53	0,32	0,15

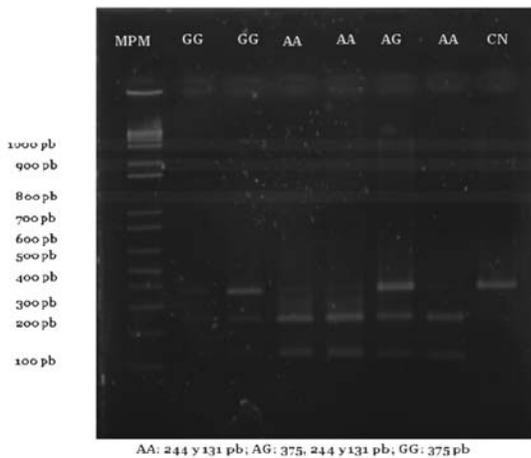


FIGURA 3. PCR-RFLP. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA AL 2%. POLIMORFISMO ALELICO CAST2959 (MPM: MARCADOR DE PESO MOLECULAR, PB: PARES DE BASE, CN: CONTROL NEGATIVO).

zas taurinas: Hereford [10], Canchim, Pardo Suizo [19], Angus, Quinchahm, Luxi y sus cruces [17], así como también se observaron resultados similares en el ganado Brahman [5, 10]. El marcador en el gen *CAST* denominado CAST2959 ha sido relacionado con variaciones en la terneza de la carne, específicamente el alelo A, asociado con mejores resultados para terneza [17]. A diferencia de los marcadores anteriormente analizados (CAPN316 y CAPN4751), la variación mostrada en la población de estudio, reflejada en la presencia de los tres genotipos (AA, AG y GG), aunado al elevado porcentaje del alelo favorable a terneza (A), hacen de este marcador un excelente candidato para el mejoramiento de tal característica en el ganado CL debido a la acción de la Calpastatina como proteína reguladora dentro del sistema proteolítico, ya que una vez genotipado el rebaño, esta información podría ser utilizada en los programas de mejora, permitiendo la selección de vacas y toros mejoradores (con una menor actividad reguladora de la Calpastatina sobre las Calpaínas), que permitan incrementar sus frecuencias en la población. Dichos hallazgos son trascendentales en poblaciones autóctonas, ya que suponen una fuente de información genética que hoy es desconocida y que podría resultar esencial para los estudios de razas locales y así aprovechar su potencial en la producción animal.

Análisis de haplotipos en el gen CAPN (316/4751)

Adicionalmente a los resultados obtenidos, el análisis de haplotipos dentro del gen CAPN (316/4751) reveló la existencia de las combinaciones C/C, G/C, G/T y C/T con valores de 0,05; 0,44; 0,47 y 0,04, respectivamente (TABLA III).

Similares frecuencias para la combinación G/T fueron observadas en las razas Charolais [18] y Angus rojo [10], así como también en mestizos Brangus [7] y Charolais x Angus [10]. No obstante, estos valores contrastan con los obtenidos en razas como Nguni [11] y Hereford [10] donde la combinación G/C representó el 50 y 64%, respectivamente.

**TABLA III
ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS EN EL GEN CAPN (316/4751)**

Haplotipos 316/4751	Número de animales	Frecuencias haplotípicas	Frecuencias alélicas
CGCC	6	0,04	CC 0,05
GGCC	19	0,12	GC 0,44
CGCT	12	0,08	GT 0,47
GGCT	89	0,57	CT 0,04
CGTT	1	0,01	
GGTT	28	0,18	

En cuanto a estudios de asociación, las opiniones sobre los haplotipos son diversas, ya que algunos investigadores han logrado obtener efecto significativo entre el haplotipo favorable C/C y la terneza [10], mientras que otros difieren con estos resultados [14]. En este punto, es importante destacar la complejidad de las interacciones genéticas y ambientales en cada población, en relación a características cuantitativas como la terneza de la carne, ya que existen muchos factores a considerar al evaluar la calidad del producto final. Conveniría realizar experimentos futuros de asociación para determinar la expresión fenotípica de las razas locales.

Análisis de combinaciones CAPN/CAST

Partiendo de que las proteínas involucradas en la maduración de la carne funcionan como un sistema, en esta investigación se caracterizaron las poblaciones estudiadas en base al análisis de los tres marcadores en conjunto CAPN/CAST: 316/4751/2959 (TABLA IV). En esta observación, la raza CL presentó gran diversidad genética con una prevalencia en la población de la combinación GGCTAA (0,32). En este sentido,

**TABLA IV
ANÁLISIS DE COMBINACIONES CAPN/CAST (316/4751/2959)**

Combinaciones (316/4751/2959)	Número de animales	Frecuencias
CGCCAA	4	0,03
CGCCAG	1	0,01
CGCCGG	1	0,01
CGCTAA	5	0,03
CGCTAG	3	0,02
CGCTGG	3	0,02
CGTTAA	1	0,01
GGCCAA	12	0,08
GGCCAG	5	0,03
GGCCGG	2	0,01
GGCTAA	50	0,32
GGCTAG	29	0,19
GGCTGG	11	0,07
GGTTAA	10	0,06
GGTTAG	12	0,08

basándose en el hecho de la variabilidad encontrada en el marcador CAST2959, y el empeño en aumentar la frecuencia de los alelos favorables en CAN316 y CAPN4751 podría justificarse la selección de individuos con las combinaciones más favorables para ternera (CGCCAA, CGCCAG).

CONCLUSIONES

La trascendencia de este trabajo se refleja en el logro de la caracterización genética del ganado CL con respecto a genes de interés en producción animal, con los recursos disponibles en términos de espacio, equipos y personal de óptima calidad a nivel regional. La mayor variación estuvo presente en los polimorfismos CAST2959 y CAPN4751, lo que indica la existencia de genotipos mejoradores (favorables a ternera) en la población, brindando la posibilidad de implementar el mejoramiento genético por esta vía en dicha raza.

Es importante destacar que los estudios de asociación utilizando marcadores genéticos deben ser validados en poblaciones locales, debido a que cada grupo existente posee patrones genéticos particulares, y por tanto, basar la mejora genética del rebaño local tomando en cuenta datos de razas especializadas y bajo condiciones agroecológicas diferentes llevaría a resultados erróneos. El conocimiento de los recursos genéticos locales puede ser una base para diseñar programas futuros de selección y para validar tecnología previamente desarrollada, con lo que se reducen los costos y tiempo de diseño experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; JORDANA, J.; AVELLANET, R.; TORRENS, M. Estudio de la variabilidad genética en la raza bovina Mallorquina para propósitos de conservación. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XII (5): 358-366. 2002.
- [2] ARMSTRONG, E.; PEÑAGARICANO, F.; RINCÓN, G.; POSTIGLIONI, A. Marcadores moleculares en producción animal: análisis de genes relacionados a la calidad de la carne en bovinos. **XII Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias**. Montevideo, 12 al 14 de julio. Uruguay. Pp 102. 2007.
- [3] BARENDSE, W. DNA markers for meat tenderness. International patent application PCT/AU02/00122. International patent publication WO 02/064820 A1. On Line: <http://ep.espacenet.com>. 2002.
- [4] BOSQUES, J. Segregación de polimorfismos identificados en los genes de μ -calpaína y calpastatina y su relación con el crecimiento corporal y características de la canal de bovinos para carne en puerto rico. Universidad de Puerto Rico, Trabajo de Grado. 124 pp. 2007.
- [5] CAFÉ, L.; MCINTYRE, B.; ROBINSON, D.; GEESINK, G.; BARENDSE, W.; GREENWOOD, P. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 1. Growth, efficiency, temperament, and carcass characteristics. **J. Anim. Sci.** 88 (9): 3047-3058. 2010.
- [6] CASAS, E.; WHITE, S.; WHEELER, T.; SHACKELFORD, S.; KOOHMARAIE, M.; RILEY, D.; CHASE, C.; JOHNSON, D.; SIMTH, T. Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. **J. Anim. Sci.** 84 (3): 520-525. 2006.
- [7] CORVA, P.; SORIA, L.; SCHOR, A.; VILLARREAL, E.; PÉREZ-CENCI, M.; MOTTER, M.; MEZZADRA, C.; MELUCCI, L.; MIQUEL-PAVÁN, E.; DEPETRIS, G.; SANTINI, F.; GRIGERA-NAÓN, J. Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in *Bos taurus* beef cattle from Argentina. **Genet. Mol. Biol.** 30 (4): 1064-1069. 2007.
- [8] CURI, R.; CHARDULO, L.; GIUSTI, J.; SILVEIRA, A.; MARTINS, C.; OLIVEIRA, H. Assessment of GH1, CAPN1 and CAST polymorphisms as markers of carcass and meat traits in *Bos indicus* and *Bos taurus*-*Bos indicus* cross beef cattle. **Meat Sci.** 1 (86): 915-920. 2010.
- [9] CURI, R.; LOYOLA-CHARDULO, L.; SILVEIRA, A.; NUNES-OLIVEIRA, E. Alternative genotyping method for the single nucleotide polymorphism A2959G (AF159246) of the bovine CAST gene. **Pesquisa Agropec. Brasil.** 43 (5): 657-659. 2008.
- [10] EENENNAAM, A.; LI, J.; THALLMAN, R.; QUAAS, R.; DIKEMAN, M.; GILL, C.; FRANKE, D.; THOMAS, M. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. **J. Anim. Sci.** 85 (4): 891-900. 2007.
- [11] FRYLINCK, L.; WYKA, G.; SMITH, T.; STRYDOM, P.; MARLE-KÖSTER, E.; WEBBER, E.; KOOHMARAIE, M.; SMITH, M. Evaluation of biochemical parameters and genetic markers for association with meat tenderness in South African feedlot cattle. **Meat Sci.** 83 (4): 657-665. 2009.
- [12] GÁBOR, M.; TRAKOVICKÁ, A.; MILUCHOVÁ, M. Identifikácia dvoch SNP markerov CAPN316 a CAPN4751 kandidátskeho génu CAPN1 pre jemnosť mäsa hovädzieho dobytku metódou ARMS-PCR. **Acta fytotech. Et Zoot. Mimoriadne éislo** 1: 178-184. 2009.
- [13] GAZDOVÁ, V.; DVOŘÁK, J. Use multiplex PCR-RFLP in prediction of beef meat quality. **Acta Fytotech. Et Zoot.** 1: 15-17. 2006.
- [14] GILL, J.; BISHOP, S.; MCCORQUODALE, C.; WILLIAMS, J.; WIENER, P. Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality

- traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. **Genet. Sel. Evol.** 41 (36): 1-12. 2009.
- [15] JOHNSTON, D.; GRASER, H. Estimated gene frequencies of GeneSTAR markers and their size of effects on meat tenderness, marbling, and feed efficiency in temperate and tropical beef cattle breeds across a range of production systems. **J. Anim. Sci.** 88 (6): 1917-1935. 2010.
- [16] LARA, M.; NARDON, R.; BUFARAH, G.; DEMARCHI, J.; SERENO, J.; SANTOS, S.; ABREU, U. Polimorfismo del gen calpaína en razas vacunas por la técnica PCR-RFLP. **Arch. Zoot.** 54: 305-310. 2005.
- [17] LI, J.; ZHANG, L.; GAN, Q.; LI, J.; GAO, H.; YUAN, Z.; GAO, X.; CHEN, J.; XU, S. Association of CAST Gene Polymorphisms with Carcass and Meat Quality Traits in Chinese Commercial Cattle Herds. **J. Anim. Sci.** 23 (11): 1405-1411. 2010.
- [18] PARRA-BRACAMONTE, G.; SIFUENTES-RINCÓN, A.; ARELLANO-VERA, W.; ALMANZA-GONZÁLEZ, A.; DE LA ROSA-REYNA, X. Tipificación de tres marcadores genéticos de caracteres de importancia comercial en ganado Charolais: implicaciones en la ganadería para carne en México. **Rev. Col. Cien. Pec.** 22: 257-266. 2009.
- [19] PARRA-BRACAMONTE, G.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, J.; GARCÍA-ESQUIVEL, F.; GONZÁLEZ-REYNA, A.; BRIONES-ENCINIA, F.; CIENFUEGOS-RIVAS, E. Tendencias genéticas y fenotípicas de características de crecimiento en el ganado Brahman de registro de México. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XVI (3): 262-267. 2007a.
- [20] PARRA-BRACAMONTE, G.; SIFUENTES-RINCÓN, A.; CIENFUEGOS-RIVAS, E.; TEWOLDE-MEDHIN, A.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, J. Polimorfismo en el gen de la μ -Calpaína en ganado Brahman de registro de México. **Asoc. Latinoam. de Prod. Anim.** 15 (1): 32-37. 2007b.
- [21] RINCÓN, G.; MEDRANO, J. Assays for genotyping single nucleotide polymorphisms in the bovine CAPN1 gene. **Anim. Genet.** 37 (3): Pp 1430. 2006.
- [22] RODAS-GONZÁLEZ, A.; VERGARA-LÓPEZ, J.; ARENAS, L.; HUERTA-LEIDENZ, N.; PIRELA, M. Características al sacrificio, rasgos de la canal y rendimiento carnicero de novillos Criollo Limonero sometidos a suplementación durante la fase de ceba a pastoreo. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XVI (4): 364-370. 2006.
- [23] TEIRA, G.; PERLO, F.; BONATO, P.; TISOCCO, O. Calidad de carnes bovinas. Aspectos nutritivos y organolépticos relacionados con sistemas de alimentación y prácticas de elaboración. **Cien. Doc. y Tecnol.** XVII (33): 173-193. 2006.
- [24] UZCÁTEGUI, S. Polimorfismos de los genes μ -Calpaína y Calpastatina y asociación con las características de calidad de la carne de animales doble propósito. Universidad del Zulia. Trabajo de Ascenso. 68 pp. 2010.
- [25] VILLASMIL-ONTIVEROS, Y.; ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; ROMÁN, R.; ISEA, W.; CONTRERAS, G.; ZAMBRAÑO, S.; JORDANA, J. Pedigree analysis in Criollo Limonero. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XVIII (3): 284-290. 2008.
- [26] VILLASMIL-ONTIVEROS, Y. Caracterización genética de bovinos de la raza Criollo Limonero utilizando marcadores moleculares de ADN del tipo Microsatélites. Universidad del Zulia. Trabajo de Grado. 95 pp. 2007.
- [27] WHITE, S.; CASAS, E.; WHEELER, T.; SHACKELFORD, S.; KOOHMARAIE, M.; RILEY, D.; CHASE, C.; JOHNSON, D.; KEELE, J.; SMITH, T. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. **J. Anim. Sci.** 83 (9): 2001-2008. 2005.