

ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO SIMPLE EN LOS GENES CAPN1, CAST, MB Y PRKAG3 A COLOR DE LA CARNE EN GANADO CEBÚ Y SUS CRUCES

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ASSOCIATION OF CAPN1, CAST, MB AND PRKAG3 GENES TO MEAT COLOR IN CEBU BREED AND ITS CROSSES

Asociación de SNPs a color de la carne en ganado bovino

Susan Lorena Castro Molina^{1*}, Marcela Ríos Rodríguez¹, Manuel Fernando Ariza Botero¹, Joel Leal Gutiérrez¹, Natalia García Flores¹, María Camila Bedoya Gómez¹, Yurany Ortiz Sanchez¹, Mario Andrés Muños Prieto¹, Ligia Mercedes Jiménez Robayo¹, Carlos Manrique Perdomo¹ y Ariel Jiménez Rodríguez²

¹Departamento de Ciencias de la Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

*sulcastromo@unal.edu.co

²Asociación Colombiana de Criadores de Ganado Cebú.

Palabras clave:

Bos taurus

Bos indicus

Genotipos

Dorsal largo

Semitendinoso

Keywords:

Bos Taurus

Bos indicus

Genotypes

Longissimus

dorsi

Semitendinosus

Abstract

The meat color is the first sensory attribute that the consumer receives when making the decision to purchase; this feature is influenced by many interacting genetic and environmental factors. This study shows the results of preliminary association analysis single nucleotide polymorphisms (SNPs) in calpain genes (CAPN1) Calpastatina (CAST), myoglobin (MB) and non-catalytic subunit gamma 3 of the AMP-activated protein kinase (PRKAG3) with flesh color. This study is one of the first held in Colombia in which it achieves the SNP identification and association of functional candidate genes for color parameters of meat from Zebu cattle and their crosses

Resumen

El color de la carne constituye el primer atributo sensorial que recibe el consumidor en el momento de tomar la decisión para la compra y está influenciado por la interacción tanto de factores genéticos como ambientales. El presente estudio muestra los resultados de un análisis de asociación de SNP de los genes Calpaina (CAPN1), Calpastatina (CAST), Mioglobina (MB) y Subunidad no catalítica gamma 3 de la proteína Quinasa AMP-activada (PRKAG3) con color de la carne. Este estudio es uno de los primeros realizados en Colombia en el cual se logra la identificación y asociación de SNP funcionales en genes candidatos a características de color de la carne de ganado Cebú y sus cruces

Introducción

Al momento de realizar la compra de un corte de carne el consumidor evalúa por medio de los órganos de los sentidos diferentes atributos inherentes a la calidad de la misma, tales como terneza, jugosidad, marmoreo y color entre otros (Offer & Knight, 1988). Esta última característica es considerada el primer criterio de selección, ya que este contacto visual orienta al consumidor a la aceptabilidad del producto. El color del tejido muscular está influenciado por la cantidad y el estado químico del pigmento de la MB (MacDougall, 1982) y por la estructura superficial de la carne la cual está directamente relacionado con su pH final. La estructura y textura de los cárnicos está relacionada con los extremos del espectros del color y es aquí donde se sitúan, la condición de las carnes pálidas blandas y exudativas las cuales se observan frecuentemente en el cerdo, esta condición es debida al agua liberada por los tejidos, que al combinarse con el efecto directo del pH y los pigmentos, genera superficies que reflejan totalmente la luz, pero que igualmente, poseen una capacidad limitada de absorción luminosa y por lo tanto la intensidad de color se reduce (Fujii et al., 1991); en el otro extremo está la carne oscura, dura y de superficie seca, anomalía que se observa generalmente en bovinos y que

se presenta como resultado de una elevación del pH último, debido a la reducida concentración de glucógeno muscular al momento del sacrificio (Hargreaves, Barrales, Peña, Larraín, & Zamorano, 2004). La identificación de la secuencia completa de genes que influyen sobre las características de importancia económica, ha permitido identificar las variantes asociadas con diferencias de expresión de una característica productiva (Corva et al., 2007, Page et al., 2002). El objetivo de este estudio fue asociar SNP de los genes CAPN1, CAST, MB y PRKAG3 de bovino con los valores fenotípicos de las características de color de los músculos *Semitendinosus* (ST) y *Longissimus dorsi* (LD) madurados los días 7, 14 y 21, con el fin de estimar el efecto de los genes sobre esta característica.

Material y métodos

La población consistió en 139 machos, 59 progenies obtenidas del cruzamiento de individuos *Bos indicus* x *Bos indicus* (Guzerat x Brahman 14 y 45 Brahman puros) y 80 animales producto del cruce *Bos taurus* x *Bos indicus*: Simmental x Brahman (16), Normando x Brahman (13), BON x Brahman (12), Braunvieh x Brahman (7), Limousine x Brahman (20), Romosinuano x Brahman (12), para un total 139 progenies. Los animales se sacrificaron cuando obtuvieron un peso promedio de 500 Kilos, con una edad promedio de 25 meses. Las características de color L* (claridad), a* (parámetro rojo-verde) y b* (parámetro de amarillo-verde) fueron evaluados al día 7, 14 y 21 *postmortem* en los músculos *Longissimus dorsi* (LD) y *Semitendinosus* (ST). Para la amplificación de los marcadores de CAPN1 y CAST se utilizaron los primers descritos por Page et.al (2002). Los primers de MB y PRKAG3 fueron generados de Ensembl (http://www.ensembl.org/Bos_taurus/Gene). Fueron estimadas de las frecuencias alélicas y genotípicas empleando el programa GenAIEx versión 6.3 (Peakall, R. et al., 2006). El análisis de asociación se realizó empleando el programa SAS 9.2 (Statistical Analysis System, 2007) mediante el procedimiento GLM, utilizando la edad como covariable.

Resultados y discusión

El análisis de asociación se llevó a cabo para 14 marcadores identificados a partir de los cuatro genes postulados en el estudio. Algunos animales presentaron muy bajas frecuencias genotípicas, para los SNP de CAPN1: CAPN 316, CAPN 5331 y CAPN 530 donde no se detectaron individuos homocigotos para los genotipo CC, TT y AA respectivamente, mostrando una baja frecuencia para los alelos C, T y A (0.05, 0.07 y 0.20), en cuanto a CAST y PRKAG3 se encontraron individuos en la población para los tres genotipos y para el gen de MB la variante alélica A de los marcadores MB1, MB3 y MB4 se encontró fija en la población (0.91 en los tres SNPs). Las medias y desviaciones estándar para las mediciones se indican en las tablas I, II y III.

Tabla I. Análisis de asociación del genotipo con L* (*Analysis of association of genotype with L**)

	Días	SNP	G	n	\bar{x}	G	n	\bar{x}	G	n	\bar{x}	
ST	7	MB1		111	48±3.3		22	50.4±4.3		2	56.6±2.2	
		MB3	AA	117	48.1±3.4	AB	19	49.5±3.9	BB	2	56.6±2.2	
		MB4		116	48.0±3.4		21	50.4±4.1		2	56.6±2.2	
	14	CAPN530	GG	82	49.0±3.8	AG	57	47.6±3.2	AA			
		MB1		115	47.9±3.3		22	50.5±4.0		2	55.3±1.8	
		MB3	AA	117	48.1±3.5	AB	19	49.8±3.8	BB	2	55.3±1.8	
		MB4		116	48.0±3.3		21	50.3±4.0		6	55.3±1.8	
		21	MB1		115	46.3±2.4		22	48.5±3.5		2	50.3±2.7
			MB3	AA	117	46.8±2.6	AB	19	47.8±3.2	BB	2	50.3±2.7
	MB4			116	46.4±2.5		21	48.2±3.4		2	50.3±2.7	

G= genotipo, n= número de animales, \bar{x} = media y desviación estándar

En el presente estudio, el análisis GLM para CAPN1, identifico asociación de los genotipos AG y GG del marcador CAPN530 a L*, para el día 14 en el músculo ST (tabla I) y el marcador CAPN4753 presentó asociación al día 7 para LD, en donde el genotipo A/A, mostró el mayor valor para a* y el menor valor para b* (tabla II y III). Esto sugiere que este marcador puede ser utilizado para seleccionar animales que se caractericen por presentar carnes más rojas para el músculo LD. En CAST el marcador CAST1 se asocio a a* para el día 21 en LD en donde el mayor valor lo presenta el genotipos AB (tabla II), los animales BB pueden presentar carnes más oscuras comparándolas con los otros dos genotipos. Son pocos los estudios que relacionan estos SNP de CAPN y CAST a rasgos de color, sin embargo una explicación a este efecto se fundamenta en que un rayo de

luz que entra en la carne es dispersada por las miofibrillas, las cuales generan un cambio en el índice de refracción. Una vez la miofibrilla es degradada por la acción de la CAPN1 durante la maduración, estos rayos de luz al incidir sobre la superficie del músculo sufren un aumento mayor en su índice de dispersión (Ciobanu et al., 2004). Mutaciones en el PRKAG3, han sido asociadas a alteraciones en el metabolismo del glicógeno provocando cambios sobre las características de calidad de la carne (Yu et al., 2005). En el análisis GLM se presentó una asociación del SNP con dos de los parámetros colorimétricos, El parámetro b^* mostró asociación para el músculo LD en los días 7 y 14 y en el músculo ST para el día 21, para a^* en el músculo LD a los días 7 y 14 los animales que poseían el genotipo CC presentaron carnes mas rojas en comparación a los otros dos genotipos (tabla II y III). Para pH la asociación con PRKAG3 presento una tendencia para el día 7 y se encontraron diferencias significativas en el día 14 en el músculo LD y en el día 21 en el músculo ST (datos no mostrados). Estos resultados concuerdan con los reportados por Ciani et al., 2010 quienes encontraron que a pesar de no existir una asociación significativa entre los genotipos y las características fenotípicas en LD sugieren un valor significativo de PRKAG3 asociado a a^* , b^* y a la CRA. La MB es una proteína sarcoplasmática, considerada el principal pigmento responsable del color de la carne fresca (Andújar, Pérez, & Venegas, 2009). El análisis GLM indico que para el día 21 se presentó asociación de los 4 SNP (MB1, MB2 MB3, y MB4) con el parámetro a^* y 3 SNP con el parámetro b^* (MB1, MB3, y MB4) en el músculo LD (tabla II y III). Para ST, el genotipo AA de MB1, MB3 y MB4 se asoció a a^* y L^* generando carnes mas rojas y con menor claridad al día 7 (tabla I y II). el SNP MB2 se asoció con dos parámetros; a^* donde los genotipo AB para el día 21 en el músculo LD, en el músculo ST, AA para el día 7, 14 y 21 y b^* con el genotipo AB a los 14 días postmortem mostraron los mejores valores fenotípico (tabla II y III). El genotipo del AA de MB1, MB3 Y MB4 mostró los valores de L^* más favorables tanto para el día 7, 14 y 21 en el músculo ST (tabla I). Finalmente la asociación de AA con a^* de los 4 marcadores de MB generó carnes más rojas que los otros genotipos al día 21 en el músculo ST a diferencia del músculos LD donde el genotipo AB de estos 4 marcadores fue el más favorable. Pocos trabajos han sido realizados asociando SNP de genes a color; este es el primer estudio donde se identifican asociaciones de polimorfismos en el gen de MB a color

Tabla II. Análisis de asociación del genotipo con a^* (*Analysis of association of genotype with a^**)

	Días	SNP	G	n	\bar{x}	G	n	\bar{x}	G	n	\bar{x}	
LD	7	CALP4753	AA	38	19.3±1.8	AC	69	18.8±2.4	CC	32	18.3±2.4	
		PRKAG3	CC	105	18.9±2.1	CG	32	18.9±2.4	GG	2	13.9±4.6	
	14	PRKAG3	CC	105	19.0±2.4	CG	32	18.6±2.3	GG	2	14.5±2.8	
		MB1		115	19.1±2.1		22	19.2±2.2		2	16.3±0.1	
	21	MB2	AA	53	18.8±2.3	AB	57	19.2±1.9	BB	29	19.0±2.1	
		MB3		117	19.1±2.1		19	19.3±2.1		2	16.3±0.1	
		MB4		116	19.1±2.1		21	19.1±2.2		2	16.3±0.1	
		CAST 1		65	18.8±2.0		48	19.3±2.2		26	19.1±2.1	
	ST	7	MB1		115	18.9±2.3		22	17.8±2.6		2	14.7±0.4
			MB2	AA	53	18.9±2.3	AB	57	18.1±2.4	BB	29	18.6±2.4
MB3				117	18.7±2.4		19	18.2±2.3		2	14.7±0.3	
MB4				116	18.7±2.3		21	17.9±2.6		2	14.7±0.4	
14		MB2	AA	53	19.0±2.4	AB	57	18.2±2.5	BB	29	18.4±2.4	
		MB1		115	19.9±2.1		22	19.4±2.7		2	17.4±0.7	
21		MB2	AA	53	20.1±2.2	AB	57	19.7±2.3	BB	29	19.5±1.9	
		MB3		117	19.8±2.1		19	19.8±2.7		2	17.4±0.7	
			MB4		116	19.9±2.1		21	19.6±2.8		2	17.4±0.7

G= genotipo, n= número de animales, \bar{x} = media y desviación estándar

Conclusiones

Los genes CAPN1, CAST, MB y PRKAG3 han demostrado su asociación a diferentes parámetros colorimétricos (L^* , a^* y b^*) en los músculos *Longissimus dorsi* y *Semitendinosus*.

Tabla III. Análisis de asociación del genotipo con b* (*Analysis of association of genotype with b**)

	Días	SNP	G	n	\bar{x}	G	n	\bar{x}	G	n	\bar{x}
LD	7	CAPN 4753	AA	38	8.6±2.4	AC	69	9.4±2.6	CC	32	9.1±2.5
		PRKAG3	CC	105	9.0±2.5	CG	32	9.6±2.7	GG	2	6.4±1.1
	14	PRKAG3	CC	105	9.3±2.1	CG	32	9.9±2.1	GG	2	6.3±0.6
	21	MB1		115	9.9±1.9		22	9.9±1.8		2	5.0±1.2
MB3		AA	117	9.9±1.9	AB	19	10.0±1.9	BB	2	5.0±1.2	
MB4			116	9.9±1.9		21	9.9±1.9		2	5.0±1.2	
ST	14	MB2	AA	53	12.5±1.9	AB	57	13.1±1.8	BB	29	11.2±1.5
	21	PRKAG3	CC	105	12.1±2.1	CG	32	12.8±2.1	GG	2	10.1±1.7

G= genotipo, n= número de animales, \bar{x} = media y desviación estándar

Bibliografía

- Andújar G, Pérez D, & Venegas O. 2009. Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos, Cuba: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia.
- Ciani E, Roux M, Ciampolini R, Mazzanti E, Cecchi F, Tancredi M, Amarger V. 2010. Haplotype association analysis of meat quality traits at the bovine PRKAG3 locus. *Italian Journal of Animal Science*, 6, 82-84.
- Ciobanu D, Bastiaansen J, Lonergan S, Thomsen H, Dekkers J, Plastow G, & Rothschild M. 2004. New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *Journal of animal science*, 82(10), 2829.
- Corva P, Soria L, Schor A, Villarreal E, Cenci M, Motter M, Paván E. 2007. Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in *Bos taurus* beef cattle from Argentina. *Genetics and Molecular Biology*, 30(4), 1064-1069.
- Fujii J, Otsu K, Zorzato F, de Leon S, Khanna V, Weiler J, MacLennan D. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253(5018), 448.
- Hargreaves A, Barrales L, Peña I, Larraín R & Zamorano L. 2004. Factores que influyen en el pH último e incidencia de corte oscuro en canales de bovinos. *Cien. Inv. Agr.* 31 (3), 145, 229.
- MacDougall, D. 1982. Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry*, 9(1-2), 75-88.
- Offer G, & Knight P. 1988. The structural basis of water-holding in meat. Part 2: Drip losses. *Developments in meat science*, 4, 173-241.
- Page B, Casas E, Heaton M, Cullen N, Hyndman D, Morris C, Smith T. 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science*, 80(12), 3077-3085.
- Yu S, Kim J, Chung H, Jung K, Lee Y, Yoon D, Sang B. 2005. Molecular cloning and characterization of bovine PRKAG3 gene: structure, expression and single nucleotide polymorphism detection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 122(5), 294-301