

NOTA BREVE

APTITUD PRODUCTIVA DE LA RAZA BOVINA PASIEGA INFERIDA DE GENES ASOCIADOS CON CARACTERES PRODUCTIVOS

THE PRODUCTION ABILITY OF THE PASIEGA BOVINE BREED INFERRRED FROM GENES CORRELATED WITH PRODUCTION TRAITS

Sevane, N.¹, Dunner, S.¹, Celorio, S.², Sañudo, B.², González, A.², García, J.A.², Argüello, S. de², Barquín, F.², Crespo, M.J.², Chomón, N.², Calderón, L.A.² y Cañón, J.^{1*}

¹Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Madrid. España. *jcanon@vet.ucm.es

²Consejería de Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad. Santander. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Selección asistida por marcadores. SNPs.

ADDITIONAL KEYWORDS

Marker assisted selection. SNPs.

RESUMEN

Se utilizó la información molecular derivada de 27 polimorfismos localizados en 21 genes, asociados con caracteres económicos, como la producción de leche y su composición, el crecimiento muscular, veteado, terneza y jugosidad, o el color de la capa para evaluar las características productivas de la raza Pasiega. Cabe destacar: la presencia de los alelos B y E en el locus *CSN3* que reflejan una buena aptitud quesera en esta raza; el predominio del alelo T en un polimorfismo del gen *RORC* que está asociado con mayor veteado; y la posibilidad de seleccionar genotipos más favorables en genes como *CAST* y *VIM* (terneza), *PPARG* (tipo de ácido graso), *AANAT*, *PGAM2* o *ME3* (características sensoriales) para mejorar la calidad de la carne.

SUMMARY

We used molecular information from 27 polymorphisms located in 21 genes associated with economic traits as are milk production and its composition, growth, marbling, sensorial traits as are tenderness, juiciness, and coat colour useful for traceability, in order to evaluate production characteristics of the Pasiega breed. We found the presence of alleles B and E at the *CSN3* locus which denote a good cheese ability; the predominance of allele T at the *RORC* locus associated with marbling and the possibility of

selecting favourable genotypes at genes as *CAST* and *VIM* (for tenderness), *PPARG* (type of fatty acid), *AANAT*, *PGAM2* or *ME3* (underlying sensorial traits) as a way to improve meat quality.

INTRODUCCIÓN

La utilización de información genotípica para mejorar la eficiencia productiva mediante la selección (Selección Asistida por Marcadores, MAS) puede ser un sistema barato y efectivo, sobre todo en caracteres difíciles o costosos de medir.

En este estudio se utiliza la información derivada de 27 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) en 111 individuos pertenecientes a la raza Pasiega para evaluar sus características productivas. Los SNPs están localizados en 21 genes asociados en otras razas con caracteres productivos, como producción de leche y su composición, crecimiento muscular, veteado y características organolépticas de la carne (terneza y jugosidad), o con el color de la capa, útil para la trazabilidad de los individuos.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 111 individuos de raza Pasiega se analizaron muestras de sangre conservada

Presentado al Congreso SERGA (2010, Asturias).

Recibido: 7-12-10. Aceptado: 8-2-11.

Arch. Zootec. 60 (231): 413-416. 2011.

en Magic Buffer® (BIOGEN Diagnóstica, España) extrayendo el ADN utilizando un protocolo fenol-cloroformo estándar. Se genotiparon con la técnica de Multiplex-Primer Extension (Sevane *et al.*, 2010) 27 polimorfismos situados en 21 genes distintos.

Así, hay genes que influyen sobre:

- Cantidad de leche y composición: *kappa caseína (CSN3)* y *β-lactoglobulina (LGB)* revisados en Barroso *et al.* (1999), *diacilglicerol O-aciltransferasa (DGAT1)* y *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha (PPARGC1A)* revisados en Ibeagha-Awemu *et al.* (2008).

- Color de la capa: *melanocortin 1 receptor (MC1R)* y *silver (SILV)* revisados en Seo *et al.* (2007).

- Crecimiento muscular y tamaño: *miostatina (GDF8)* revisado en Ibeagha-Awemu *et al.* (2008), *peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARG)* y *stearoil-CoA desaturasa (SCD)*.

- Veteado, cantidad y tipo de grasa intramuscular: *DGAT1*, *tiroglobulina (TG)*, *SCD* y *PPARGC1A* revisados en Ibeagha-Awemu *et al.* (2008), *retinoic acid receptor-related orphan receptor C (RORC)* (Barendse *et al.*, 2007), *uncoupling protein 2 (UCP2)*, *PPARG*, *RAR-related orphan receptor alpha (RORA)*, *arylalkylamine N-acetyltransferasa (AANAT)* y *cofilin 1 (CFL1)*.

- Características organolépticas (terneza, jugosidad, aroma, color...): *calpastatina* relacionada con la terneza (*CAST*) revisado en Ibeagha-Awemu *et al.* (2008), *lysil oxidasa con terneza (LOX)* (Barendse, 2002), *RORA* con variaciones en el pH, *GDF8 (del11)* con el color y el pH, *AANAT* con pH, *phosphoglycerate mutase 2 (PGAM2)* con el potencial de las fibras musculares para generar ATP, *vimentin (VIM)* con el color y el pH, *citocromo P450 (CYP1A1)* con la pérdida de agua y enzima málica (*ME3*) con la jugosidad de la carne y el color.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla I** se recoge la localización de

los polimorfismos y los números de acceso de la base de datos GenBank. Los comentarios que siguen se basan en estudios de asociación realizados en otras razas.

Se han estudiado dos genes (*MC1R* y *SILV*) que contribuyen a determinar el color de la capa y son útiles para la trazabilidad. En el caso de *MC1R*, aparece el alelo *E⁺* (alelo salvaje responsable de combinaciones de rojo o marrón rojizo con negro) y el alelo *e* (recesivo para el rojo) aparece en homocigosis en 14 animales y en heterocigosis en 42, por lo que serán mayoritarias las capas rojizas o amarillentas. Ningún individuo presenta el alelo mutado del gen *SILV*, exclusivo del Charolés que permite detectar la introgresión por esta raza.

Respecto a los genes que influyen sobre caracteres lecheros se destaca la presencia de los alelos B y E en el locus *CSN3*, lo que refleja una buena aptitud quesera de la raza Pasiega, así como la fijación en la población del alelo q del locus *DGAT1* y el predominio del alelo C en *PPARGC1A*, ambos asociados con menor cantidad de grasa en la leche.

La influencia del gen *GDF8* sobre el crecimiento y características de la canal es conocida, y en este estudio se han analizado tres mutaciones: la que aparece en razas como Asturiana de Valles o Blanco Azul Belga (nt821(del11)), la de la raza Charolés (Q204X) y una que afecta al exón 1 (F94L) que aparece en muchas razas con distintas frecuencias: ninguna de ellas aparece en la raza Pasiega.

Se genotiparon dos SNPs del gen *CAST*: g.2959 G<A AF159246 (SNP1) y ss77832278 (SNP2), ambos asociados con terneza, siendo AA-CC (SNP1-SNP2) el haplotipo que determina carnes más tiernas. La **tabla II** muestra los haplotipos para estos dos polimorfismos, correspondiendo la mayoría de muestras a valores de terneza intermedia dadas por los haplotipos AG-CG y AG-GG.

El gen *PGAM2* está asociado con los niveles de la enzima *citocromo C-oxidasa*

POLIMORFISMOS DE GENES ASOCIADOS A PRODUCCIÓN EN BOVINOS PASIEGOS

Tabla I. Veintisiete polimorfismos genotipados en 21 loci, localización de los SNPs y frecuencias alélicas y genotípicas de cada uno. (Twenty seven genotyped polymorphisms corresponding to 21 loci, SNP location and allelic and genotypic frequencies of each).

Locus y posición del SNP ¹	Nº acceso GenBank	Nº	Alelo 1	Alelo 2	Frecuencias
					Alelo 1 Heterocigotos
AANAT	ss62584155	78	C	T	0,50 0,72
CAST_SNP1 g.2959 G<A	AF159246	110	A	G	0,72 0,45
CAST_SNP2	ss77832278	92	C	G	0,40 0,51
CFL1	ss77831721	111	C	T	0,61 0,57
CSN3 g.12947 G<A	AY380229	74	G (AóB)	A (C)	1,00 0,00
CSN3 g.13100 C<A	AY380229	74	C (BóC)	A (A)	0,46 0,43
CSN3 g.13120 A<G	AY380229	74	A (AóBóC)	G (E)	0,95 0,09
CYP1A1	ss77832034	109	G	A	0,80 0,31
DGAT1 g.6829 A<G	AY065621	77	G	A	1,00 0,00
GDF8 del821	ss77831865	108	Del 11	G	0,00 0,00
GDF8 p.F94L	ss77831863	103	C	A	1,00 0,00
GDF8 p.Q204X	ss77831864	110	C	T	1,00 0,00
LGB g.5864 C<T	Z48305	66	C (B)	T (A)	0,33 0,27
LOX	ss77832168	104	C	T	0,61 0,40
MC1R_E+/Dg.422T<C	S71017	89	C	T	0,00 0,00
MC1R_e p.G104V	S71017	86	Ins	G	0,41 0,50
ME3	ss77831909	94	A	G	0,59 0,45
PGAM2	ss77831774	80	C	T	0,53 0,50
PPARGC1A g.19 C<T	AY547554	106	C	T	0,78 0,24
PPARG	ss62850198	110	G	A	0,81 0,30
RORA	ss65549854	110	A	G	0,06 0,13
RORC g.3290 G<T	DQ667048	111	G	T	0,30 0,41
SCD g.10329 T<C	AY241932	110	C	T	0,83 0,26
SILV g.92 G<A	EF065525	110	G	A	1,00 0,00
TG g.1696 C<T	M35823	76	C	T	0,82 0,37
UCP2 g.812 G<A	XM614452	66	C	T	0,11 0,80
VIM	ss77831736	109	G	A	0,47 0,46

¹Símbolo del locus junto con la posición del SNP en la secuencia de la columna adyacente.

²Número de animales genotipados para cada locus.

(COX) que contribuye a la generación de ATP por parte de las fibras musculares (alta en el caso de las fibras de tipo oxidativo, y baja en las glicolíticas). Este gen no ha sido aparentemente nunca seleccionado en la raza Pasiega encontrándose tantos individuos con un alelo como con el alternativo.

En cuanto al veteado y la cantidad y tipo de grasa intramuscular cabe destacar los resultados obtenidos para los genes *RORC*, *TG*, *PPARG*, *AANAT* y *PPARGC1A*. El ale-

lo T del locus *RORC*, asociado con mayor veteado, presenta una frecuencia alélica del 70%, mientras que el recesivo T de la tiroglobulina (*TG*), asociado también con un aumento de la grasa intramuscular, aparece de forma minoritaria. El alelo A del gen *PPARG* (minoritario en Pasiega) se encuentra asociado al incremento de la cantidad de ácidos grasos poli-insaturados 22:5 n-3, 20:5 n-3 y 22:6 n-3, pero por el contrario, el alelo G relacionado con caracteres de ca-

Tabla II. Haplótipos de los SNPs g.2959 G<A AF159246 (SNP1) y ss77832278 (SNP2) del gen CAST. Los símbolos - y + indican los haplotipos que mejoran la ternera. (SNPs haplotype for g.2959 G<A AF159246 (SNP1) and ss77832278 (SNP2) corresponding to the CAST gene. Symbols (+or-) show improvement in tenderness).

CAST	SNP1			TERNEZA	
	AA	AG	GG		
SNP2	CC	2	8	2	12
	CG	16	30	1	47
	GG	28	4	0	32
Total	46	42	3	91	
				- TERNEZA +	

nal, produce animales con una mayor longitud corporal y altura a los 9 meses. La mitad de los individuos presenta el alelo T de *AANAT* que se asocia con un incremento en la cantidad del ácido graso 14:0 que contribuye a la lipidemia y al aumento del

pH a las 3 horas *post-mortem*, lo que da lugar a carnes DFD. Y finalmente la presencia mayoritaria del alelo C en el caso del gen *PPARGC1A* denota poca grasa intramuscular, así como en leche está asociado a un contenido graso bajo.

Las muestras analizadas presentan frecuencias muy similares para los dos alelos (46% G; 54% A) para el gen VIM. El alelo G de *ME3*, cuya frecuencia es del 42 %, se encuentra asociado con mayor jugosidad de la carne.

En conclusión, los datos obtenidos en este estudio muestran una población con una buena aptitud quesera, carnes veteadas y con una ternera intermedia. Asimismo, abre la posibilidad de utilizar esta información molecular en programas de selección asistida por marcadores (MAS) como un complemento a la información fenotípica tradicional.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por INIA a través del proyecto nº RZ2008-00006-C02-02.

BIBLIOGRAFÍA

- Barendse, W.J. 2002. DNA markers for meat tenderness. Patent application WO02064820.
- Barendse, W.J., Bunch, R.J., Kijas, J.W. and Thomas, M.B. 2007. The effect of genetic variation of the retinoic acid receptor-related orphan receptor C gene on fatness in cattle. *Genetics*, 175: 843-853.
- Barroso, A., Dunner, S. y Cañón, J. 1999. Polimorfismo genético de las lactoproteínas de los rumiantes domésticos-Revisión. *ITEA*, 2: 143-179.
- Bernard, C., Cassar-Malek, I., Le Cunff, M., Dubroeucq, H., Renand, G. and Hocquette, J.F. 2007. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 5229-5237.
- Ibeagha-Awemu, E.M., Kgwatalala, P. and Zhao, X. 2008. A critical analysis of production-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *Mamm. Genome*, 19: 591-617.
- Seo, K., Mohanty, T.R., Choi, T. and Hwang, H. 2007. Biology of epidermal and hair pigmentation in cattle: a mini-review. *Vet. Dermatol.*, 18: 392-400.
- Sevane, N., Cortés, O., García, D., Cañón, J. and Dunner, S. 2010. New single nucleotide polymorphisms in *Alecto* identified using chicken genome information allow *Alecto* introgression detection. *Mol. Ecol. Resour.*, 10: 205-213.