
Area: CA - Cs. Agropecuarias

Título del Trabajo:

FRECUENCIA DE POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO SIMPLE DE CALPASTATINA BOVINA
EN RODEOS DEL NEA

Autores: JARA, LEANDRO - DE BIASIO, MARÍA B. - SANDOVAL, GLADIS L.

E-mail de Contacto: glsandoval@vet.une.edu.ar

Tipo de Beca: UNNE Pregrado

Resolución N°: 970/11

Período: 01/03/2012 - 28/02/2013

Proyecto Acreditado: Código 17B144, Título: Gen de ternera de la carne bovina: polimorfismos existentes en reproductores para rodeos de carne en el nordeste argentino. Período 2009-2012

Lugar de Trabajo: Facultad de Cs. Veterinarias

Palabras Claves: Ternera de carnes - Marcadores moleculares - Selección asistida de reproductores

Resumen:

La resolución de *rigor mortis* muscular es producto de la acción de enzimas proteolíticas, del complejo calpaína/calpastatina, que son las principales responsables de la ternera de las carnes. La proteína calpastatina (CAST), de 706 aminoácidos, se liga a los dominios III de la calpaína (CAPN) y disminuye la actividad proteolítica de mu y m-CAPN y consecuentemente la "tiernización" de la carne. Una actividad *post-mortem* aumentada de CAST correlaciona con ternera reducida de carnes. La actividad de la enzima está relacionada con la presencia de diferentes alelos en el genotipo del individuo. En bovinos se han descrito varios polimorfismos alélicos del tipo simple nucleótido (SNPs) en distintas regiones del gen (localizado en el cromosoma 7). Como parte de la selección asistida de reproductores, se analizan algunos SNPs, incluidos en test comerciales, por su significativa asociación con la variabilidad en ternera. Para determinar la frecuencia de las variantes alélicas de CAST en bovinos de carne del NEA se ensayaron múltiples reacciones de amplificación por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) de regiones del gen que contienen los polimorfismos de interés seguido de digestión con enzimas de restricción para poner en evidencia los polimorfismos y conocer el estado de homo o heterocigosis. Se trabajó inicialmente con un polimorfismo de nucleótido único (SNP) en CAST descrito por Schenkel et al. 2005, transversión ó sustitución de G/C. Esta transversión en los productos de PCR resulta en la presencia/ausencia de un sitio de restricción para la enzima Rsa I, que reconoce la secuencia GT/AC (exón 5) en posición 257pb. El patrón de corte de la enzima permite conocer el genotipo en cada muestra: GG, GC o CC. Según Schenkel, el número de alelos C se relaciona con el porcentaje de inaceptabilidad de los bifes del músculo *Longissimus* (fuerza al corte de cizalla WB > 5.7 kg). Con las especificaciones técnicas de los autores y otras modificaciones ensayadas a esta técnica no se logró obtener el amplicón. Luego se probaron dos técnicas más, propuestas por Sakowski et al. (2008) - CAST-S - y por Curi et al (2009) -CAST-C, con resultados exitosos. Para CAST-S se obtuvieron fragmentos del gen de 624pb, amplicón que se sometió a restricción con la enzima Alu I a 37°C durante tres horas, para analizar el polimorfismo GC (identificado por Barendse en 2002, sustitución G/A en el extremo 3' no traducido del ARNm de CAST, posición 2959 de la secuencia GenBank AF117813). Para la PCR-RFLP de CAST-C (CAST 2959) se obtuvo un amplicón de 269 pb, que se sometió a restricción con la enzima Dde I, a 37°C cuatro horas, para analizar el polimorfismo A/G (GenBank AF159246). En ambos casos, los productos resultantes se analizaron por electroforesis en geles de agarosa teñida con bromuro de etidio y visualización por transiluminación UV. Las respectivas frecuencias para los alelos "tierno" y "duro" de CAST fueron respectivamente de 0,68 y 0,32 en Corrientes (C), de 0,59 y 0,41 en Chaco (Ch) para CAST-S (transversión C/G); de 0,72 y 0,27 en C y de 0,68 y 0,32 en Ch para CAST-C (transversión A/G). Así, hubo una mayor frecuencia de la variante polimórfica que resulta en la enzima menos activa ("carne tierna") en los animales Braford de las poblaciones de los establecimientos analizados.