

# Efecto de los polimorfismos en $\mu$ -calpaína y calpastatina en características de importancia económica en ganado para carne en Puerto Rico<sup>1</sup>

Jonael Bosques<sup>2</sup>, Melvin Pagán-Morales<sup>3\*</sup>, Américo Casas<sup>4</sup>, Aixa Rivera<sup>5</sup> y Danilo Cianzio<sup>6</sup>

J. Agric. Univ. P.R. 99(2):87-104 (2015)

## RESUMEN

Se evaluaron asociaciones entre polimorfismos de nucleótidos simples (SNP, por sus siglas en inglés) en el gen de  $\mu$ -calpaína (*CAPN1-316* y *CAPN1-4751*) y en calpastatina (*CAST*) con características de crecimiento en un grupo de toros Senepol, Charolais y Senepol x Charolais (n=99). En otro estudio se buscaron asociaciones entre estos SNP y características de canal y de calidad de la carne de 42 animales sometidos a tres tratamientos dietéticos. El SNP *CAPN1-316* estuvo asociado con tasa de ganancia en peso y peso vivo estimado a los 205 y 240 d, y con edad al destete, siendo los animales del genotipo CG más pesados, de más rápida ganancia en peso y más jóvenes al destete que aquellos con genotipo GG. Este último genotipo presentó músculos *Biceps femoris*, *Semitendinosus* y *Gluteus* spp. más pesados, mientras, los animales CG tuvieron mayor área del músculo *Longissimus dorsi*. El SNP *CAPN1-4751* se asoció con el peso al nacimiento, peso del músculo *Longissimus dorsi* y relación músculo a hueso, siendo los animales TT superiores a los CT. Los alelos C de *CAPN1-316* y *CAPN1-4751* se asociaron con diferencias en la terneza de la carne a 0 d *postmortem*. No se observó ninguna asociación para el SNP de *CAST*. Estos resultados destacan el hallazgo de que la sustitución de nucleótidos en el gen de *CAPN1* da lugar a diferencias en crecimiento somático del ganado bovino seleccionado para producción de carne en Puerto Rico.

**Palabras clave:** polimorfismos, características de canal, genotipos, Senepol, Charolais

<sup>1</sup>Manuscrito resometido a la junta editorial el 1 de abril de 2015.

<sup>2</sup>Exestudiante graduado, Departamento de Industria Pecuaria, Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

<sup>3</sup>Catedrático, Departamento de Ciencia Animal, Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Mayagüez, PR 00681-9000.

\*Autor para correspondencia: melvin.pagan1@upr.edu

<sup>4</sup>Catedrático, Departamento de Ciencia Animal, Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

<sup>5</sup>Catedrática Asociada, Departamento de Ciencia Animal, Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

<sup>6</sup>Catedrático (fallecido), Departamento de Ciencia Animal, Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

## ABSTRACT

Effect of polymorphisms in the  $\mu$ -calpain and calpastatin genes on economically important traits of beef cattle in Puerto Rico

The associations between single nucleotide polymorphisms (SNP) in the  $\mu$ -calpain (*CAPN1-316* and *CAPN1-4751*) and calpastatin (*CAST*) genes and growth traits were evaluated in a population of Senepol, Charolais and Senepol $\times$ Charolais bulls (n=99). In another study, associations were evaluated between these SNP and carcass traits of a subgroup of 42 animals submitted to three dietary treatments. The SNP *CAPN1-316* was associated with daily weight gain at 205 and 240 d, and with weaning age, wherein animals with CG genotype were heavier, gained weight faster, and were younger at weaning than animals with GG genotype. The latter presented heavier *Biceps femoris*, *Semitendinosus*, and *Gluteus* spp. muscles, but CG animals had a superior *Longissimus dorsi* area. The *CAPN1-4751* gene was related to birth weight, *Longissimus dorsi* weight, and with muscle to bone ratio, and for these traits the TT genotype was superior to the CT. The *CAPN1-316* and *CAPN1-4751* C alleles were found to be correlated with differences in meat tenderness measured at 0 d *postmortem*. The *CAST* SNP was not associated with any of the traits evaluated in this experiment. These results indicate that nucleotide substitution in the *CAPN1* gene can produce differences in somatic growth in young bulls selected for beef production in Puerto Rico.

Key words: polymorphisms, carcass traits, genotypes, Senepol, Charolais

## INTRODUCCIÓN

La venta de carne con perfiles de terneza inaceptable para el público consumidor ha perjudicado la industria de producción de carne de res en los Estados Unidos (Wheeler y Koohmaraie, 1994). Este problema es más marcado al tratarse de animales producto de cruces con *Bos indicus* (Keele et al., 1999). Durante las primeras 24 h *postmortem* el músculo se vuelve rígido, pero subsiguientemente esta etapa concluye y la carne comienza un proceso de enternecimiento (Veiseth et al., 2004; Camou et al., 2007). Sin embargo, en este proceso se observa gran variabilidad en el ganado bovino (Veiseth et al., 2004).

La evidencia disponible indica que el sistema de calpaínas/calpastatina es el principal responsable del desarrollo de la terneza de la carne *postmortem* (Koohmaraie, 1994; Goll et al., 1999; Casas et al., 2006). Es un hecho bien establecido que  $\mu$ -calpaína (*CAPN1*) juega un papel importante en el proceso de degradación de proteínas miofibrilares en el músculo durante el almacenamiento *postmortem*, en el cual se observa una mejora en el grado de terneza de la carne (Geezink y Koohmaraie, 2000; Goll et al., 2007). También se han identificado diversos polimorfismos de nucleótidos simples (SNP), los cuales pueden provocar diferencias en cuanto al grado de terneza de carne bovina posiblemente

te asociadas a cambios en la actividad enzimática de estas proteasas (Page et al., 2002 y 2004; White et al., 2005; Casas et al., 2006).

El gen de calpastatina (*CAST*), inhibidor natural de *CAPN1*, posee diversos marcadores moleculares, los cuales modulan su función (Barendse, 2002; Casas et al., 2006). Estudios previos (Barendse, 2002; Page et al., 2002 y 2004; White et al., 2005; Casas et al., 2006) han evaluado diversos marcadores en los genes de *CAST* y *CAPN1*. En estos se han detectado asociaciones individuales entre los SNP encontrados en *CAST* y *CAPN1* con el grado de terneza de la carne de bovinos en razas de clima templado y frío (Casas et al., 2006). Sin embargo, en el trópico no se han realizado estudios similares.

El objetivo del presente estudio fue establecer asociaciones entre tres de los polimorfismos encontrados en el sistema de calpaína/calpastatina y diversas características de importancia económica para la población de ganado para carne de Puerto Rico.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron animales (n=99) de las razas Senepol, Charolais, y Senepol × Charolais divididos entre dos estudios (n=29 toretes ≥50% Charolais; n=70 toretes ≥50% Senepol). La fuente de animales para la primera fase (evaluación de la asociación de los SNP antes descritos con características de crecimiento pre-destete) fue el hato del Proyecto de Ganado de Carne del Departamento de Ciencia Animal del Colegio de Ciencias Agrícolas (CCA) en Finca Montaña en Aguadilla, Puerto Rico. Los animales de la segunda fase (evaluación de la asociación de los SNP antes descritos con características de la canal y calidad de la carne) provinieron de estudios de recría y ceba que se efectúan en el CCA-Estación Experimental Agrícola en Corozal, Puerto Rico.

#### *Manejo y alimentación de los animales en la etapa de recría y ceba*

Los animales provinieron de un proyecto de investigación con suplementación al pastoreo, de dos años de duración, que se efectuó en la Estación Experimental de Corozal, ubicada en la región montañosa, a una altura de 200 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura diaria promedio de 20 a 24 °C a través del año, y una precipitación anual promedio de 1,524 a 2,034 mm. La crianza de los animales se llevó a cabo en un área de 14.57 ha de potreros cuya vegetación consta de una asociación de *Cynodon nlemfuensis* Vanderyst var. *nlemfuensis*, *Eriochloa polystachya* H.B.K. y *Brachiaria purpurascens* Henr. Las pasturas recibieron fertilización inorgánica a razón de 73.38 kg/ha/año de una fórmula 15-5-10 (N-P-K), dividida en dos aplicaciones (mayo y noviembre). Este proyecto de recría y ceba utilizó por año 48 becerros

destetados de las razas Senepol, Charolais, y cruza (Senepol x Charolais) de nueve meses de edad promedio. De ellos se evaluaron para el análisis de SNP 24 toretes nacidos entre febrero y abril de 2005 y otros 24 nacidos entre febrero y abril de 2006.

*Tratamientos de suplementación nutricional a que se sometieron los toretes*

Hubo tres tratamientos en un diseño de bloques completamente aleatorizados con dos repeticiones por tratamiento. En el control (T1), los animales tuvieron acceso a forraje de pastoreo como ración única y con una carga animal de 0.45 cabeza/ha). En el tratamiento de suplementación alimentaria moderada (T2), a los animales en pastoreo a una carga de 0.53/ha, la suplementación estratégica (proteica/energética) empleó afrecho de trigo ofrecido a niveles crecientes progresivamente de 0.35 a 0.55% diario del peso vivo promedio a través del periodo experimental, resultando en consumos diarios de 1.0 a 2.63 kg. En el tercer tratamiento (T3) se procuraba una suplementación estratégica (proteica/energética) de alto nivel basada en afrecho de trigo y la carga animal a pastoreo aumentó a 0.61/ha. En el T3 se duplicó la cantidad de afrecho de trigo ofrecida comparado con la de T2, incrementando progresivamente el ofrecimiento de 0.35 a 1.2% del peso vivo promedio, dando consumos diarios de 1.0 a 5.21 kg a través de un período que terminó 60 d previos a la matanza. Durante los últimos 60, los animales en T3 recibieron una ración de ceba compuesta por afrecho de trigo y maíz partido (14% proteína bruta) ofrecido a 80% de su consumo voluntario estimado, equivalente a 2.2% del peso vivo diariamente (NRC, 1996), por lo cual se procuraba permitir que los animales consumieran como mínimo el restante 20% en forma de pasto durante esta etapa.

*Colección de sangre para el análisis de polimorfismos de nucleótidos simples*

Se colectaron 8.0 ml de sangre por animal en los años 2005 y 2006. De esta cantidad se destinaron 300 µl al método de extracción de ácido desoxirribonucleico utilizando el "Aquapure DNA Isolation Kit" (Bio-Rad Laboratories Hercules, CA)<sup>7</sup>. El resto de la sangre colectada se sometió a extracción de células blancas ("buffy coats"). Esta última se almacenó en un ultra-congelador a temperaturas menores de -50° C para análisis futuros.

<sup>7</sup>Los nombres de compañías y de marcas registradas solo se utilizan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

*Condiciones de reacción en cadena de polimerasa (PCR)*

Se amplificaron las regiones donde se localizan los diferentes SNP mediante PCR según descrito por White et al. (2005) y Casas et al. (2006). Los productos de PCR se examinaron por electroforesis en geles de 2% de agarosa utilizando el amortiguador 1X TBE y mediante visualización por tinción con bromuro de etidio. Luego estos se fotografieron utilizando Quality One® v 4.1 software en un sistema de imagen Gel Doc 2000 (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA).

Las regiones variables estudiadas en *CAPN1* (*CAPN1*-316 y *CAPN1*-4751) se amplificaron por medio de varios iniciadores. En el caso de la región *CAPN1*-316 la secuencia de iniciadores fue la siguiente: 5'-GTGACTTTGTGCTGCGTTTCT-3' y 5'-CCTTGCTGGCTAGAGACCAA-3' (Page et al., 2004). Los iniciadores utilizados para la amplificación de la región *CAPN1*-4751 fueron: 5'-AAGGGACAGATGTGGACAGG-3' y 5'-GAGGGGTGTTCTCTGAGTGC-3' (White et al., 2005).

Las regiones variables estudiadas en *CAST* se amplificaron por varios iniciadores con las siguientes secuencias: 5'-CATTGGAACGATGCCTCAC-3' y 5'-TCTACGATTAGCAGCTCAAGAGGAG-3' (Barendse, 2002).

*Genotipificación de SNP en CAPN1 y CAST por medio de espectrometría en masa (MALDI)*

Para identificar los genotipos de las regiones específicas 316 y 4751 del gen de *CAPN1* y el de *CAST*, las muestras se sometieron a espectrometría en masa (MALDI-TOF Mass Spectrometry) según Stone et al. (2005). Respecto a la primera y segunda región variable estudiada (*CAPN1*-316 y 4751, respectivamente), los SNP constan de una transversión de citosina (C) por guanina (G) y una transición de citosina (C) por timina (T), respectivamente. El SNP *CAST* consiste de una transición entre C y T.

CUADRO 1.—Características de crecimiento evaluadas en toretes de Finca Montaña<sup>1</sup>.

---

 Características de Crecimiento
 

---

Peso al nacer (kg)
Ganancia en peso diaria a 205 d (kg)
Peso estimado a los 205 d (kg)
Peso al destete (kg)
Edad al destete (d)
Ganancia en peso diaria a 240 d (kg)
Peso estimado a 240 d (kg)

---

<sup>1</sup>Fase previa al destete.

CUADRO 2.—Características de canal y de calidad de la carne evaluadas en toretes de la Estación Experimental Agrícola de Corozal<sup>1</sup>.

Características	
Edad de matanza (d)	Tejido de descarte (kg)
Peso de matanza (kg)	Grasa intermuscular (kg)
Peso canal caliente (kg)	Relación músculo-hueso (%)
Izquierda	Porcentaje de hueso
Derecha	Peso de músculo total (kg)
Total	Porcentaje comestible (%)
Peso canal fría (kg)	Área <i>Longissimus dorsi</i> (cm <sup>2</sup> )
Izquierda	Grasa subcutánea (kg)
Merma (kg)	Pierna izquierda
Peso hueso total (kg)	Peso (kg)
Peso individual de músculos (kg):	Largo (cm)
<i>Semitendinosus</i>	Ancho (cm)
<i>Semimembranosus</i>	Porcentaje de canal trasera (%)
<i>Longissimus dorsi</i>	Terneza por Warner Bratzler <sup>2</sup> (kg)
<i>Psoas major</i>	Panel sensorial <sup>2</sup> : (escala 1 a 8)
<i>Rectus femoris</i>	Terneza
<i>Gluteus medius</i>	Jugosidad
<i>Biceps femoris</i>	Aceptación General
<i>Obliquous</i>	
<i>Gastrocnemius</i>	

<sup>1</sup>Fase de recría y ceba.

<sup>2</sup>Estas características fueron determinadas en el músculo *Longissimus dorsi*.

### Análisis estadístico

Para evaluar la asociación entre los marcadores de CAPN1 y CAST con características de importancia económica (Cuadros 1 y 2), se utilizó análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de separación de medias de Tukey (SAS, 2000).

Para las características de crecimiento pre-destete, el modelo lineal utilizado fue:

$$y_{ijk} = m + G_i + M_j + e_{ijk}, \text{ donde:}$$

$y_{ijk}$  = observación  $k$  concerniente al tipo genético  $i$  (raza o cruce) y al genotipo  $j$  de CAPN1 o CAST

$m$  = media total

$G_i$  = tipo genético del animal

$M_j$  = genotipo CAPN1 o CAST

$e_{ijk}$  = error experimental

El peso al nacimiento sirvió como covariable en este modelo.

Para las características de canal y calidad de carne, el modelo lineal fue:

$$y_{ijklm} = m + G_i + M_j + T_k + B_1 + MT_{jk} + e_{ijklm} \text{ donde:}$$

$y_{ijklm}$  = observación  $m$  concerniente al tipo genético  $i$  (raza o cruce), al genotipo  $j$  de *CAPNI* o *CAST*, al tratamiento  $k$ , al Bloque  $l$ , y a la interacción de  $jk$

$m$  = media total

$G_i$  = tipo genético del animal

$M_j$  = genotipo *CAPNI* o *CAST*

$T_k$  = tratamiento de suplementación  $k$  anidado dentro del bloque  $l$

$B_l$  = bloque experimental

$MT_{jk}$  = interacción del genotipo  $j$  con el tratamiento  $k$

$e_{ijklm}$  = error experimental

Dependiendo de la característica bajo evaluación, se utilizó el peso del cuarto trasero izquierdo de la canal, contenido de grasa intramuscular, pérdida de líquido durante la cocción y edad a la matanza como covariables.

### RESULTADOS

#### *Asociación entre CAPNI-316 y características de crecimiento y de la canal*

En la fase de crecimiento pre-destete, *CAPNI-316* estuvo relacionado al peso vivo estimado a los 205 y 240 d ( $P < 0.05$ ; Cuadro 3) siendo animales de genotipo CG más pesados que los GG. También se encontraron diferencias en ganancia en peso a los 205 y 240 d entre los genotipos del SNP *CAPNI-316*. Los animales con genotipo CG ganaron peso más rápidamente que sus contrapartes GG. El SNP *CAPNI-316* fue relacionado con diferencias en la edad al destete, siendo los animales GG cronológicamente mayores que los CG. Para estas características el genotipo CC fue similar a los restantes genotipos ( $P > 0.05$ ; Cuadro 3).

CUADRO 3.—*Características de crecimiento previo al destete de toretes (Finca Montaña) en relación a los genotipos de CAPNI-316 \**

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CG	GG
Peso al nacer, kg	0.20	39.03	41.40	42.68
Ganancia en peso diaria a 205 d, kg**	<b>0.001</b>	1.00 ab	1.08 b	0.96 a
Peso estimado a los 205 d, kg**	<b>0.001</b>	244.80 ab	260.75 b	237.04 a
Peso al destete, kg**	0.34	251.40	270.99	278.00
Edad al destete, d**	<b>0.04</b>	221.61 ab	225.77 b	254.72 a
Ganancia en peso diaria a 240 d, kg**	<b>0.0001</b>	1.02 ab	1.08 b	0.94 a
Peso estimado a 240 d, kg**	<b>0.0001</b>	284.79 ab	298.12 b	265.86 a

\*Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol, Charolais y sus cruces (n=99).

\*\*El análisis de estas características fue con ajuste por el peso al nacimiento.

<sup>ab</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

En la fase de recría y ceba, el marcador *CAPN1-316* estuvo asociado con varias características de la canal (Cuadro 4). Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el peso de los músculos *Biceps femoris*, *Gastrocnemius*, *Semitendinosus* y *Gluteus* spp. (GG>CG). Lo contrario se observó para el peso de tejido de descarte y el área del músculo *Longissimus dorsi* ( $P < 0.05$ ). Debido a que en el presente estudio solamente se encontró un animal CC, las asociaciones entre este genotipo y las características estudiadas no fueron consideradas. No se detectó interacción entre los genotipos de *CAPN1-316* y los tratamientos de suplementación.

#### *Asociación entre CAPN1-4751 con características de crecimiento y de la canal*

Se encontró que al nacimiento los toretes con el genotipo CT de *CAPN1-4751* fueron más livianos que el homocigoto TT ( $P < 0.05$ ; Cuadro 5). Respecto al peso de canal fría y al de tejido de descarte, los toretes con un alelo T tuvieron mayores valores que los CC ( $P < 0.05$ ; Cuadro 6). Además, los animales CT presentaron pesos menores en el músculo *Longissimus dorsi* y una relación músculo a hueso más baja en comparación con los TT. Al mismo tiempo, el porcentaje de hueso fue superior en los CT. No se encontró interacción entre los genotipos de *CAPN1-4751* y los tratamientos de suplementación.

#### *Asociación entre CAST y características de crecimiento y de la canal*

No se encontró ninguna asociación entre el polimorfismo encontrado en *CAST* y las características de crecimiento o de la canal incluidas en este experimento ( $P > 0.05$ ; Cuadros 7 y 8).

#### *Asociación entre CAPN1 y la terneza de la carne*

Se estableció una asociación entre el genotipo de *CAPN1-316* y el valor de terneza de la carne determinado por Warner Bratzler (WB) al 0 d *postmortem* ( $P < 0.05$ ), presentando el genotipo CG menor fuerza de corte que los GG (Cuadro 9). Esta diferencia desapareció luego de un período de maduración de 14 d.

El panel de evaluación sensorial no encontró diferencias entre genotipos para la jugosidad, terneza y aceptabilidad en la carne expuesta o no a maduración *postmortem*. Sin embargo, en términos generales, el panel de probadores detectó que el período de maduración de 14 d mejoró la palatabilidad de la carne. Este resultado también se reflejó en la fuerza de corte WB. Lo mismo se observó para *CAPN1-4751*, con la diferencia de que luego de 14 d de maduración, el genotipo CC fue catalogado por el panel sensorial como más tierno que el TT ( $P < 0.05$ ; Cuadro 10). No se estableció ninguna asociación entre el marcador *CAST* y los datos del panel sensorial y terneza por WB (Cuadro 11).

CUADRO 4.—Características de la canal relacionadas a los genotipos de *CAPN1-316* de toretes provenientes de la fase de recría y ceba (*Estación Experimental en Co-rozal*)\*.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CG	GG
Peso de canal caliente izquierda, kg <sup>1</sup>	0.79	134.31	139.77	141.33
Peso de canal caliente derecha, kg <sup>1</sup>	0.85	134.20	140.12	139.66
Peso de canal caliente total, kg <sup>1</sup>	0.87	270.16	281.38	280.57
Peso de canal fría, kg <sup>1</sup>	0.42	141.05	141.04	138.12
Peso de pierna izquierda, kg**	0.10	57.05	61.85	62.90
Peso de hueso de cuarto trasero, kg**	0.34	13.38	11.30	10.90
Peso de músculos individuales, kg**				
• <i>Biceps femoris</i>	<b>0.001</b>	5.95	5.70 a	6.31 b
• <i>Longissimus dorsi</i>	0.51	3.01	3.39	3.46
• <i>Rectus femoris</i>	0.23	4.46	4.95	5.22
• <i>Semimembranosus</i>	0.13	7.01	7.45	7.90
• <i>Gluteus spp.</i>	<b>0.02</b>	4.93	4.64 a	4.95 b
• <i>Psoas major</i>	0.12	1.82	1.96	2.07
• <i>Semitendinosus</i>	<b>0.01</b>	2.11	2.24 a	2.48 b
• <i>Obliquous</i>	0.11	3.10	4.23	4.83
• <i>Gastrocnemius</i>	<b>0.02</b>	3.64	3.64 a	4.20 b
Peso de tejido de descarte, kg**	<b>0.02</b>	5.29	7.98 a	6.16 b
Peso de grasa intermuscular, kg**	0.17	1.60	2.51	2.21
Peso de tendón, kg**	0.52	0.81	1.32	1.32
Rendimiento de canal, %**	0.14	54.58	55.11	56.04
Porcentaje de canal trasero	0.05	40.00	43.97	44.97
Porcentaje de canal delantero	0.05	60.00	56.03	55.03
Relación músculo/hueso	0.51	3.37	4.17	4.21
Porcentaje de hueso	0.27	22.41	17.90	17.57
Peso de músculo total de cuarto trasero, kg**	0.67	42.73	44.48	43.98
Porcentaje de músculo	0.71	73.55	71.24	71.02
Porcentaje comestible	0.46	76.17	78.91	79.01
Área de <i>Longissimus dorsi</i> , cm <sup>2</sup>	<b>0.02</b>	33.45	34.70 a	32.13 b
Peso de grasa subcutánea, kg**	0.69	1.04	1.22	1.37
Largo de pierna, cm	0.31	104.28	111.51	112.57
Ancho de pierna, cm	0.26	62.70	71.68	68.71
Peso de matanza, kg	0.27	495.65	514.32	470.32
Edad a la matanza, d	0.56	639.00	612.00	613.80

\*Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol×Charolais (n=42).

<sup>1</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el peso de matanza.

\*\*El análisis de estas características fue con ajuste por el peso de canal caliente izquierda.

<sup>ab</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

## DISCUSIÓN

El objetivo del presente trabajo fue investigar posibles asociaciones entre los polimorfismos *CAPN1-316*, *CAPN1-4751* y *CAST* con carac-

CUADRO 5.—Características de crecimiento previo al destete de torques (Finca Montaña) en relación a los genotipos de CAPN1-4751\*.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CT	TT
Peso al nacer, kg	<b>0.04</b>	42.59 ab	39.87 a	43.08 b
Ganancia en peso diaria a 205 d, kg**	0.51	0.99	1.03	1.01
Peso estimado a los 205 d, kg**	0.51	243.36	251.42	247.35
Peso al destete, kg**	0.72	263.96	273.76	274.81
Edad al destete, d**	0.95	241.43	240.39	244.24
Ganancia en peso diaria a 240 d, kg**	0.50	0.93	0.97	0.97
Peso estimado a 240 d, kg**	0.50	263.91	273.08	271.93
Peso actual a 205 d, kg**	0.73	242.05	249.00	252.68

\*Solo se utilizaron los datos de torques Senepol, Charolais y sus cruces (n=99).

\*\*El análisis de estas características fue con ajuste por el peso al nacimiento.

<sup>ab</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

terísticas de crecimiento, de la canal y calidad de la carne de toros de raza de carne en Puerto Rico. El sistema de *CAPN/CAST* ha sido relacionado con diferencias en terneza de la carne (Koochmaraie, 1994; Geesink y Koochmaraie, 1999; Page et al., 2002 y 2004; White et al., 2005; Casas et al., 2006; Camou et al., 2007; Van Enennaam et al., 2007). A nivel molecular, las *CAPN* juegan un papel importante en la diferenciación celular y en la degradación de proteínas musculares (Goll et al., 2007; Van den Maagdenberg et al., 2007). Estas proteasas están involucradas en la regulación de la miogénesis (Moyen et al., 2004), y se teoriza que la relación *CAPN/CAST* se asocia estrechamente a la degradación de proteínas de la membrana celular durante la fusión de las células satélites al formarse el miotubo (Dourdin et al., 1999). Por esta razón se estudia la acción del sistema de *CAPN/CAST* en el crecimiento muscular. Van den Maagdenberg et al. (2007) afirmaron que el crecimiento muscular es el resultado de un balance positivo existente entre la síntesis y la degradación de proteínas en la miofibrilla.

En el presente estudio se observó una relación entre los SNP encontrados en el gen de *CAPN1* (*CAPN1*-316 y 4751) con diferentes características fenotípicas de crecimiento en toros de las principales razas para carne utilizadas en Puerto Rico. El marcador *CAPN1*-316 se asoció con variaciones en ganancia en peso diaria a 205 y 240 d, peso estimado a los 205 d y la edad al destete de animales de razas Senepol, Charolais y sus cruces. El marcador *CAPN1*-4751 a su vez se asoció con variaciones en el peso al nacimiento. Previamente estos polimorfismos se habían asociado únicamente con diferencias en terneza (Page et al., 2004; White et al., 2005; Casas et al., 2006) y se habían propuesto como

CUADRO 6.—Características de la canal relacionadas a los genotipos de CAPN1-4751 de toretes provenientes de la fase de recría y ceiba (Estación Experimental en Corozal)\*.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CT	TT
Peso de canal caliente izquierda, kg <sup>1</sup>	0.32	136.27	142.88	138.17
Peso de canal caliente derecha, kg <sup>1</sup>	0.35	135.48	138.00	142.45
Peso de canal caliente total, kg <sup>1</sup>	0.42	272.63	283.78	279.18
Peso de canal fría, kg <sup>1</sup>	<b>0.03</b>	128.77 a	142.33 b	135.76 ab
Peso de pierna izquierda, kg <sup>**</sup>	0.95	62.02	62.17	62.46
Peso de hueso de cuarto trasero, kg <sup>**</sup>	0.23	10.99	11.54	10.48
Peso de músculos individuales, kg <sup>**</sup>				
– <i>Biceps femoris</i>	0.10	6.15	5.89	6.30
– <i>Longissimus dorsi</i>	<b>0.04</b>	3.54 ab	3.31 a	3.66 b
– <i>Rectus femoris</i>	0.94	5.09	5.02	5.09
– <i>Semimembranosus</i>	0.47	7.78	7.52	7.86
– <i>Gluteus</i> spp.	0.53	4.89	4.75	4.68
– <i>Psoas major</i>	0.31	1.97	1.92	2.03
– <i>Semitendinosus</i>	0.07	2.39	2.27	2.51
– <i>Obliquous</i>	0.14	5.09	4.20	4.76
– <i>Gastrocnemius</i>	0.66	3.90	3.85	4.08
Peso de tejido de descarte, kg <sup>**</sup>	<b>0.03</b>	5.32 a	7.70 b	6.27 ab
Peso de grasa intermuscular, kg <sup>**</sup>	0.75	2.19	2.39	2.29
Peso de tendón, kg <sup>**</sup>	0.48	1.37	1.22	1.41
Rendimiento de canal, % <sup>**</sup>	0.53	55.53	55.32	55.99
Porcentaje de canal trasero	0.70	44.43	44.21	44.94
Porcentaje de canal delantero	0.70	55.57	55.79	55.06
Relación músculo/hueso	<b>0.01</b>	4.05 ab	3.79 a	4.57 b
Porcentaje de hueso	<b>0.01</b>	18.61 ab	19.59 a	16.11 b
Peso de músculo total de cuarto trasero, kg <sup>**</sup>	0.96	43.92	4.21	44.19
Porcentaje de músculo	0.19	72.30	72.80	70.80
Porcentaje comestible	0.12	79.24	78.29	79.86
Área de <i>Longissimus dorsi</i> , cm <sup>2</sup>	0.80	32.99	33.22	33.88
Peso de grasa subcutánea, kg <sup>**</sup>	0.32	0.94	1.27	1.33
Largo de pierna, cm	0.30	113.66	113.35	109.89
Ancho de pierna, cm	0.44	68.09	71.21	69.52
Peso de matanza, kg	0.79	513.46	490.56	489.48
Edad a la matanza, d	0.59	621.60	615.90	610.80

\*Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol×Charolais (n=42).

<sup>1</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el peso de matanza.

<sup>\*\*</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el peso de canal caliente izquierda.

<sup>ab</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

indicadores exclusivos de dicha característica. Sin embargo, a diferencia del presente estudio, los animales utilizados por Page et al. (2004), White et al. (2005) y Casas et al. (2006), con excepción de los Brahman, fueron producto de cruzamientos. Más aún, en investigaciones previas

CUADRO 7.—Características de crecimiento previo al destete de toretes (Finca Montaña) en relación a los genotipos de CAST\*.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CT	TT
Peso al nacer, kg	0.22	41.59	38.14	40.40
Ganancia en peso diaria a 205 d, kg**	0.94	0.99	1.01	1.02
Peso estimado a los 205 d, kg**	0.93	248.48	246.96	248.56
Peso al destete, kg**	0.23	331.97	276.46	270.59
Edad al destete, d**	0.15	308.75	245.57	240.41
Ganancia en peso diaria a 240 d, kg**	0.84	0.92	0.96	0.97
Peso estimado a 240 d, kg**	0.83	261.39	269.70	272.27
Peso actual a 205 d, kg**	0.10	318.96	252.21	248.30

\*Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol, Charolais y sus cruces (n=99).

\*\*El análisis de estas características fue con ajuste por el peso al nacimiento.

<sup>ab</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

se ha establecido que el sistema *CAPN/CAST* está ligado a diversos factores que regulan el crecimiento y desarrollo celular en etapas pre- y post-natales (Chung et al., 2007; Van den Maagdenberg et al., 2007). En un estudio realizado por Miquel et al. (2007) se encontró una asociación entre el SNP *CAPN1*-316 y la ganancia diaria en peso vivo y el peso a la matanza en ganado Angus y Brangus criado a pastoreo. Para estas características el genotipo GG fue superior a los demás (P<0.05). Este resultado difiere de los hallazgos del presente estudio donde el genotipo CG presentó mayor tasa de ganancia diaria, lo que resultó en un peso corporal mayor en relación a los animales GG. Esta diferencia a su vez se reflejó en una mayor edad al destete para los animales GG comparado con los animales CG. Estas discrepancias entre ambos estudios se pueden deber a que la información fenotípica utilizada en el presente estudio provino de animales Senepol, Charolais y sus cruces. Además, los animales de Miquel et al. (2007) fueron sacrificados a un espesor de grasa dorsal promedio de 6.0 mm (edad matanza), mientras que la edad a la matanza en el presente estudio fue de 20 meses en promedio. Sin embargo, los animales en el presente estudio, irrespectivamente de su genotipo, fueron superiores en ambas características a los de Miquel et al. (2007).

Arthur y Crawford (1996) estudiaron el efecto de la modificación en la subunidad *CAPN4* presente en los genes de m- y  $\mu$ -*CAPN*. Al alterar la secuencia de bases del gen de  $\mu$ -*CAPN* (clasificado en el presente estudio como *CAPN1*) se encontró que el desarrollo fetal se afectaba y quedó sin completarse, lo que indica que la alteración del gen *CAPN1* puede ser crucial para el desarrollo y supervivencia del feto. En otros estudios relacionados, al disminuir la expresión de *CAPN1* mermó la

CUADRO 8.—Características de la canal relacionadas a los genotipos de CAST de toretes provenientes de la fase de recría y ceba (Estación Experimental en Corozal)\*.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CT	TT
Peso de canal caliente izquierda, kg <sup>1</sup>	0.38	—	137.33	141.49
Peso de canal caliente derecha, kg <sup>1</sup>	0.19	—	135.79	141.10
Peso de canal caliente total, kg <sup>1</sup>	0.10	—	270.68	284.14
Peso de canal fría, kg <sup>1</sup>	0.72	—	138.72	138.70
Peso de pierna izquierda, kg <sup>**</sup>	0.72	—	62.00	62.40
Peso de hueso de cuarto trasero, kg <sup>**</sup>	0.66	—	11.32	11.02
Peso de músculos individuales, kg <sup>**</sup>				
– <i>Biceps femoris</i>	0.08	—	5.76	6.15
– <i>Longissimus dorsi</i>	0.74	—	3.38	3.43
– <i>Rectus femoris</i>	0.72	—	5.01	5.10
– <i>Semimembranosus</i>	0.33	—	7.90	7.59
– <i>Gluteus spp.</i>	0.60	—	4.69	4.77
– <i>Psoas major</i>	0.27	—	1.91	1.99
– <i>Semitendinosus</i>	0.28	—	2.26	2.39
– <i>Obliquous</i>	4.30	—	4.23	4.59
– <i>Gastrocnemius</i>	0.56	—	4.07	3.91
Peso de tejido de descarte, kg <sup>**</sup>	0.93	—	6.92	7.00
Peso de grasa intermuscular, kg <sup>**</sup>	0.67	—	2.25	2.37
Peso de tendón, kg <sup>**</sup>	0.42	—	1.42	1.27
Rendimiento de canal, % <sup>**</sup>	0.16	—	54.89	55.81
Porcentaje de canal trasero	0.66	—	44.21	44.59
Porcentaje de canal delantero	0.46	—	55.05	55.74
Relación músculo/hueso	0.44	—	3.98	4.19
Porcentaje de hueso	0.51	—	18.55	17.78
Peso de músculo total de cuarto trasero, kg <sup>**</sup>	0.96	—	44.16	44.21
Porcentaje de músculo	0.44	—	71.79	70.90
Porcentaje comestible	0.36	—	78.29	79.11
Área de <i>Longissimus dorsi</i> , cm <sup>2</sup>	0.92	—	33.30	33.43
Peso de grasa subcutánea, kg <sup>**</sup>	0.36	—	1.07	1.27
Largo de pierna, cm	0.96	—	112.32	112.20
Ancho de pierna, cm	0.78	—	70.73	70.06
Peso de matanza, kg	0.94	—	492.16	494.46
Edad a la matanza, d	0.26	—	621.90	612.00

\*Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol × Charolais (n=42).

<sup>1</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el peso de matanza.

<sup>\*\*</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el peso de canal caliente izquierda.

<sup>ab</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

proteólisis muscular (Xu y Mellgren, 2002; Camou et al., 2007). Dichos experimentos demostraron que una alteración en la ruta regulatoria de *CAPN1* puede comprometer la proliferación celular y el desarrollo de estructuras dependientes de migración.

CUADRO 9.—Asociación entre genotipos de *CAPN1-316* con datos de terneza por Warner Bratzler y panel sensorial para toretes en la fase de recría y ceba (Estación Experimental en Corozal)\*.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CG	GG
Terneza por Warner Bratzler 0 d, kg <sup>1**</sup>	<b>0.02</b>	6.32	4.64 a	5.89 b
Terneza por Warner Bratzler 14 d, kg <sup>1**</sup>	0.95	3.55	3.61	3.73
Terneza 0 d <sup>1,2**</sup>	0.88	5.39	4.82	4.79
Terneza 14 d <sup>1,2**</sup>	0.13	6.46	5.94	5.53
Jugosidad 0 d <sup>1,2**</sup>	0.89	5.06	4.58	4.55
Jugosidad a 14 d <sup>1,2**</sup>	0.83	5.40	5.17	5.05
Aceptabilidad a 0 d <sup>1,2**</sup>	0.91	4.73	4.92	4.79
Aceptabilidad a 14 d <sup>1,2**</sup>	0.86	5.85	5.49	5.56

\*Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol×Charolais (n=42).

<sup>1</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por la edad a la matanza.

<sup>\*\*</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el contenido de grasa intramuscular.

<sup>2</sup>Escala hedónica: 1=extremadamente seca, dura e inaceptable; 8=extremadamente jugosa, tierna y aceptable.

<sup>a,b</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

En el presente estudio los SNP *CAPN1-316* y *CAPN1-4751* se asociaron con variaciones en características de la canal. El SNP *CAPN1-316* se relacionó con diferencias en pesos de músculos del cuarto trasero al igual que con el peso del tejido de descarte, y el área del músculo *Longissimus dorsi*; y el *CAPN1-4751* con los pesos de canal fría, del músculo *Longissimus dorsi*, y del tejido de descarte, también con la relación músculo a hueso, y con el porcentaje de hueso en el cuarto trasero izquierdo.

En diversos estudios a nivel genómico se han identificado regiones variables dentro de los genes *CAPN1* y *CAST* (Page et al., 2002 y 2004; White et al., 2005; Casas et al., 2006). En estas investigaciones se identificaron SNP que afectan la estructura molecular de  $\mu$ -*CAPN* mediante la sustitución de una base nitrogenada, lo que cambia la identidad del aminoácido específico. De acuerdo a White et al. (2005) y Casas et al. (2006), los alelos C de *CAPN1-316* y *CAPN1-4751* han sido catalogados como responsables por la producción de carne con perfiles de terneza aceptables en ganado bovino, lo que concuerda con los resultados del presente experimento. En este último se observó que el alelo C de *CAPN1-316* estuvo relacionado a variaciones en la terneza determinada por WB a 0 d *postmortem* (1.25 kg de diferencia entre los genotipos CG y GG). El alelo C de *CAPN1-4751* se encontró asociado a variaciones detectadas por el panel sensorial en la terneza de la carne expuesta a maduración a 14 d, resultando en una clasificación de moderadamente tierna. Aunque para *CAPN1-4751* no se encontró un efec-

CUADRO 10.—Asociación entre genotipos de CAPN1-4751 con datos de terneza por Warner Bratzler y panel sensorial para toretes en la fase de recría y ceba (*Estación Experimental en Corozal*)<sup>\*</sup>.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC	CT	TT
Terneza por Warner Bratzler 0 d, kg <sup>1**</sup>	0.06	5.25	4.76	6.17
Terneza por Warner Bratzler 14 d, kg <sup>1**</sup>	0.30	3.85	3.40	4.06
Terneza 0 d <sup>1,2**</sup>	0.23	4.84	5.04	4.38
Terneza 14 d <sup>1,2**</sup>	<b>0.04</b>	6.13 a	5.85 ab	5.29 b
Jugosidad 0 d <sup>1,2**</sup>	0.06	4.84	4.86	4.06
Jugosidad a 14 d <sup>1,2**</sup>	0.30	5.06	5.27	4.83
Aceptabilidad a 0 d <sup>1,2**</sup>	0.15	5.04	5.06	4.34
Aceptabilidad a 14 d <sup>1,2**</sup>	0.09	5.93	5.59	5.26

<sup>\*</sup>Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol×Charolais (n=42).

<sup>1</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por la edad a la matanza.

<sup>\*\*</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el contenido de grasa intramuscular.

<sup>2</sup>Escala hedónica: 1=extremadamente seca, dura e inaceptable; 8=extremadamente jugosa, tierna y aceptable.

<sup>a,b</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

to estadísticamente significativo entre genotipos (P>0.05), la presencia del alelo C estuvo asociado a una menor fuerza de corte (por 1.16 kg a 0 d y 0.44 kg a 14 d).

CUADRO 11.—Asociación entre genotipos de CAST con datos de terneza por Warner Bratzler y panel sensorial para toretes en la fase de recría y ceba (*Estación Experimental en Corozal*)<sup>\*</sup>.

Características	Valor P	Genotipo		
		CC <sup>^</sup>	CT	TT
Terneza por Warner Bratzler 0 d, kg <sup>1**</sup>	0.57	—	5.51	5.16
Terneza por Warner Bratzler 14 d, kg <sup>1**</sup>	0.68	—	3.78	3.63
Terneza 0 d <sup>1,2**</sup>	0.98	—	4.83	4.82
Terneza 14 d <sup>1,2**</sup>	0.60	—	5.62	5.78
Jugosidad 0 d <sup>1,2**</sup>	0.72	—	4.67	4.54
Jugosidad a 14 d <sup>1,2**</sup>	0.91	—	5.14	5.11
Aceptabilidad a 0 d <sup>1,2**</sup>	0.95	—	4.83	4.86
Aceptabilidad a 14 d <sup>1,2**</sup>	0.09	—	5.22	5.64

<sup>\*</sup>Solo se utilizaron los datos de toretes Senepol×Charolais (n=42).

<sup>1</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por la edad a la matanza.

<sup>\*\*</sup>El análisis de estas características fue con ajuste por el contenido de grasa intramuscular.

<sup>2</sup>Escala hedónica: 1=extremadamente seca, dura e inaceptable; 8=extremadamente jugosa, tierna y aceptable.

<sup>a,b</sup>Dentro de una fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).

<sup>^</sup>El genotipo CC no fue observado en la población estudiada.

Por otro lado, Barendse (2002), Casas et al. (2006) y Van Enennaam et al. (2007) obtuvieron evidencia de una asociación entre el alelo T del SNP CAST con valores superiores de terneza de la carne determinados por WB, siendo el alelo C aquel que predisponía al animal a producir carne más dura. A nivel estadístico, los resultados del presente estudio no revelan estas observaciones, por lo que parecería no recomendable extrapolar los resultados de esta investigación a la población general de ganado de raza para carne de Puerto Rico sin antes ser validados utilizando un número superior de animales. Van Enennaam et al. (2007) informaron una reducción en la fuerza de corte a 14 d *postmortem* de 0.15 kg para la sustitución del alelo C por el T. Esta diferencia fue idéntica a la observada en el presente estudio y fue más marcada a 0 d (0.35 kg), lo cual es cónsono con lo informado por Casas et al. (2006) a 14 d.

### CONCLUSIONES

Esta investigación aporta evidencia para la existencia de una asociación entre los marcadores moleculares en el gen de  $\mu$ -calpaína: *CAPN1-316* y *CAPN1-4751* con características de importancia económica en bovinos para carne. Sin embargo, se precisan estudios adicionales con mayor número de animales para confirmar que los polimorfismos en el sistema de *CAPN/CAST* afectan características de crecimiento y de la canal, como los pesos del músculo *Longissimus dorsi*, la cantidad de tejido de descarte y otras, además de las ya establecidas para la terneza de la carne. Con respecto a *CAST*, no se observó una asociación entre este y las características evaluadas en el presente trabajo. Los hallazgos presentes sugieren que los polimorfismos genéticos evaluados en *CAPN1* podrían tener un impacto significativo en el crecimiento de los animales durante su desarrollo al igual que en la composición de la canal. Previamente se han estudiado estos SNP en razas de clima templado y frío, y en lotes de animales alimentados con dietas altas en energía. El presente estudio provee evidencia de que estos marcadores podrían servir para predecir el desempeño de los bovinos para carne a nivel de finca en cuanto a características de importancia económica en el clima tropical.

### LITERATURA CITADA

- Arthur, J. S. y C. Crawford, 1996. Investigation of the interaction of m-calpain with phospholipids: Calpain-phospholipid interactions. *Biochim. Biophys. Acta* 1293: 201.
- Barendse, W. J., 2002. DNA markers for meat tenderness. International patent application PCT/AU02/00122. International patent publication WO 02/064820 A1.

- Camou, J. P., J. A. Marchello, V. F. Thompson, S. W. Mares y D. E. Goll, 2007. Effect of *postmortem* storage of  $\mu$ - and  $m$ -calpain in five different bovine muscles. *J. Anim. Sci.* 10.2527/jas.2007-0164.
- Casas, E., S. N. White, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, D. G. Riley, C. C. Chase Jr., D. D. Johnson y T. P. L. Smith, 2006. Effects of *calpastatin* and  $\mu$ -*calpain* markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.* 84: 520.
- Chung, H., B. Choi, G. Jang, K. Lee, H. Kim, S. Yoon, S. Im, M. Davis y H. Hines, 2007. Effect of variants in the ovine skeletal-muscle-specific calpain gene on body weight. *J. Appl. Genet.* 48(1): 61.
- Dourdin, N., D. Balcerzak, J. J. Brustis, S. Poussard, P. Cottin y A. Ducastaing, 1999. Potential  $m$ -calpain substrates during myoblast fusion. *Exp. Cell Res.* 246: 433.
- Geesink, G. H. y M. Koohmaraie, 1999. Effect of *calpastatin* on degradation of myofibrillar proteins by  $\mu$ -calpain under *postmortem* conditions. *J. Anim. Sci.* 77: 2685.
- Geesink, G. H. y M. Koohmaraie, 2000. Ionic strength-induced inactivation of  $\mu$ -calpain in *postmortem* muscle. *J. Anim. Sci.* 78: 2336.
- Geesink, G. H., S. Kuchay, A. H. Chishti y M. Koohmaraie, 2006. A-Calpain is essential for *postmortem* proteolysis of muscle proteins. *J. Anim. Sci.* 84: 2834.
- Goll, D., V. F. Thompson y J. Cong, 1999. The calpain system: Its proteins, properties, and secrets. Meat Science and Muscle Biology Symposium. American Society of Animal Science.
- Goll, D. E., G. Neti, S. W. Mares y V. F. Thompson, 2007. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains. *J. Anim. Sci.* 10.2527/jas.2007-0395.
- Keele, J. W., S. D. Shackelford, S. M. Kappes, M. Koohmaraie y R. T. Stone, 1999. A region on bovine chromosome 15 influences beef longissimus tenderness in steers. *J. Anim. Sci.* 77: 1364.
- Koohmaraie, M., 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 36: 93.
- Miquel, M., E. Villareal, C. Mezzadra, L. Melucci, L. Soria, P. Corva y A. Schor, 2007. Growth and carcass traits of steers on pasture discriminating genotypes of *CAPN1* 316 marker. XX Reunión Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Cusco, Perú. PB041.
- Moyen, C., S. Goudenege, S. Poussard, A. H. Sassi, J. J. Brustis y P. Cottin, 2004. Involvement of micro-calpain (*CAPN 1*) in muscle cell differentiation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36: 728.
- NRC, 1996. Nutrients requirements of beef cattle. Seventh Revised Ed. National Academy of Sciences, National Research Council, Washington, D.C.
- Page, B. T., E. Casas, M. P. Heaton, N. G. Cullen, D. L. Hyndman, C. A. Morris, A. M. Crawford, T. L. Wheeler, M. Koohmaraie, J. W. Keele y T. P. L. Smith, 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in *CAPN1* for association with meat tenderness in cattle. *J. Anim. Sci.* 80: 3077.
- Page, B. T., E. Casas, R. L. Quaas, R. M. Thallman, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, S. N. White, J. W. Keele y T. P. L. Smith, 2004. Association of markers in the bovine *CAPN1* gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J. Anim. Sci.* 82: 3474.
- SAS, 2000. SAS/STAT User's Guide. Release 8.0. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Stone, R. T., E. Casas, T. P. L. Smith, J. W. Keele, G. Harhay, G. L. Bennett, M. Koohmaraie, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford y W. M. Snelling, 2005. Identification of genetic markers for fat deposition and meat tenderness on bovine chromosome 5: Development of a low-density single nucleotide polymorphism map. *J. Anim. Sci.* 83: 2280–2288.
- Van den Maagdenberg, K., E. Claeys, A. Stinckens, N. Buys y S. De Smet, 2007. Effect of age, muscle and insulin-like growth factor-II genotype in pigs on muscle proteolytic and lipolytic enzyme activities. *J. Anim. Sci.* 10: 2527.

- Van Eenennaam, A. L., J. Li, R. M. Thallman, R. L. Quaas, M. E. Dikeman, C. A. Gill, D. E. Franke y M. G. Thomas, 2007. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *J. Anim. Sci.* 85: 891.
- Veiseth, E., S. D. Shackelford, T. L. Wheeler y M. Koohmaraie, 2004. Indicators of tenderization are detectable by 12 h *postmortem* in ovine *longissimus*. *J. Anim. Sci.* 82: 1428.
- Wheeler, T. L. y M. Koohmaraie, 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine *longissimus* muscle. *J. Anim. Sci.* 72: 1232.
- White, S. N., E. Casas, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, D. G. Riley, C. C. Chase, Jr., D. D. Johnson, J. W. Keele y T. P. L. Smith, 2005. 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: 2001.
- Xu, Y. y R. L. Mellgren, 2002. Calpain inhibition decreases the growth rate of mammalian cell colonies. *J. Biol. Chem.* 277: 21474.