

Factores genéticos y ambientales que determinan la terneza de la carne bovina

L. A. Soria y P. M. Corva¹

Área de Genética. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.
Buenos Aires. Argentina.

Genetic and environmental factors influencing beef tenderness

ABSTRACT. Tenderness is one of the most important quality attributes of beef. However, one the major problems that remains in the beef industry is the inconsistency of tenderness and the difficulties of its prediction. Beef tenderness is affected by factors related to the animal, such as genetics and nutrition, and also by slaughter practices and handling of beef. In this review, the structure of muscle and its relation to beef tenderness is discussed. The role of molecular markers in animal breeding and its potential application in the prediction of tenderness is emphasized.

Key Words: Beef, Tenderness, Molecular Markers, QTL's.

© 2004 ALPA. Todos los derechos reservados

Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2004. 12(2): 73-88

RESUMEN. La terneza es uno de los atributos de calidad más importante en la carne bovina. Sin embargo, es difícil de predecir y su determinación es compleja. La terneza está muy influenciada por factores inherentes al animal, como su constitución genética, el manejo y la alimentación, y también por las prácticas durante el sacrificio y manipulación posterior de la carne. A pesar del elevado número de factores intervinientes, resultados de investigación indican que la misma puede ser incrementada a través de la mejora genética de los animales. En esta revisión se describen la estructura del músculo esquelético y su relación con la terneza posterior de la carne. También se describen los principales factores genéticos y ambientales que determinan su variabilidad. Se enfatiza el rol de la tecnología de marcadores moleculares en su predicción y en el mejoramiento animal.

Palabras Clave: Carne bovina, Terneza, Marcadores moleculares, QTL's.

Introducción

La satisfacción del consumidor de carne depende de un conjunto de propiedades de la misma tales como su terneza, jugosidad y sabor. Sin duda, la terneza es entre esos atributos uno de los que el consumidor privilegia como criterio de calidad. Si bien hay diferentes criterios entre consumidores en cuanto a características deseables de la carne, la preferencia por carne tierna es consistente y reconocida en todos los ámbitos de producción y comercialización.

No obstante la importancia comercial de la terneza, la inconsistencia en la predicción de la misma constituye todavía un problema relevante de la industria de la carne. Similares dificultades se presen-

tan cuando se intenta incluir a la terneza como objetivo de selección en un programa de mejoramiento genético, por ser una característica difícil de medir, que requiere en general de técnicas destructivas y a una edad avanzada del individuo.

Una de las causas de la gran variabilidad que manifiesta la terneza de la carne bovina es que la misma está determinada por la constitución genética del animal y también por factores ambientales como las condiciones durante crianza y engorde, las prácticas de alimentación y el manejo antes y después de la faena. En lo que se refiere al componente genético, la genética cuantitativa clásica ha demostrado la existencia de diferencias en terneza entre y dentro de las razas bovinas (Marshall, 1999). En la actualidad se

Recibido Junio 05, 2003. Aceptado Marzo 18, 2004.

¹Área de Genética y Mejoramiento Genético. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. CC 276 (7620) Balcarce. Provincia de Buenos Aires. Argentina.

dispone de nuevas metodologías para los estudios de genética animal que han surgido a partir del avance de disciplinas como la biología molecular y la genómica (Kappes, 1999). Con estas nuevas metodologías se intenta inferir el mérito genético de un individuo no sólo a partir de su fenotipo y el de animales emparentados, sino evaluando directamente genes para identificar las variantes alélicas más favorables. Estas estrategias son de desarrollo muy reciente y de aplicación incipiente. Por ello, el objetivo del presente trabajo es revisar las bases biológicas de la terneza de la carne, enfatizando la contribución que haría la aplicación de información genómica al estudio y predicción de la misma.

La carne: Su estructura microscópica y composición proteica

El músculo esquelético es el principal componente de la carne; por ello se describirá someramente la estructura microscópica y la composición proteica del músculo, con el propósito de comprender los factores que determinan la terneza de la carne y que señalarán a los genes potencialmente involucrados en dicho proceso. Como se verá luego, esos genes son potenciales candidatos para el desarrollo de marcadores moleculares para asistir al mejoramiento genético.

Las fibras del músculo esquelético consisten en largas células multinucleadas dispuestas en una estructura de haces muy característica, debido a la presencia de una serie de componentes del tejido conectivo que separan y envuelven a dichas fibras

(Price y Schweigert, 1976). El grado de organización de esta compleja estructura *in vivo* y su evolución con posterioridad al sacrificio tienen estrecha relación con el grado de terneza que tendrá la carne.

Cada músculo está rodeado por una gruesa lámina de tejido conectivo denominada epimisio (Figura 1). Del epimisio parten elementos de tejido conectivo que penetran en el músculo y lo dividen en grupos de haces o fascículos. Estas travéculas de tejido conectivo constituyen el perimisio. Del perimisio parten septos muy delgados que penetran en los haces y rodean a cada una de las fibras musculares individuales; esa fina lámina de tejido conectivo se denomina endomisio. Las células grasas que presenta el músculo se localizan en el perimisio y son extrafasciculares. Este depósito grueso es el responsable del veteado de la carne (Price y Schweigert, 1976). La acumulación de lípidos en este depósito es un carácter muy deseado en algunos mercados como parámetro de calidad y tiene una gran influencia en la determinación del valor de la carne.

La fibra muscular tiene un diámetro de 10 a 50 μm y se halla rodeada por una membrana que se denomina sarcolema, la cual contacta con el endomisio. Cada fibra muscular contiene múltiples miofibrillas delgadas que son las unidades contráctiles del músculo, las cuales se hallan incluidas en el citoplasma de la célula muscular o sarcoplasma. Las miofibrillas son elementos contráctiles intracelulares alargados de 1 a 3 μm de diámetro. El aspecto estriado de la fibra muscular está determinado por la disposición estructural de los miofilamentos finos y gruesos, que microscópicamente se observan como bandas claras y oscuras alternadas. El sarcómero es la unidad es-

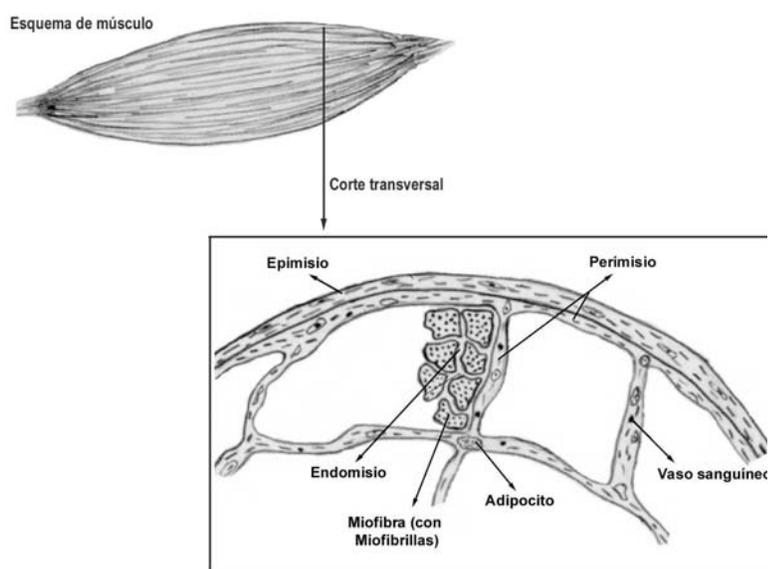


Figura 1: Esquema de un músculo y de un corte transversal del mismo (adaptado de Warriss, 2000)

tructural y funcional de la miofibrilla, mide aproximadamente 1,5-2,2 μ m de longitud y es el segmento comprendido entre discos Z. Estos últimos, son líneas oscuras que subdividen a las bandas claras formadas por filamentos finos (bandas I). También en la banda clara y próximo al disco Z, aparece una zona más densa que se denomina línea N₂ (Figura 2) (Alberts *et al.*, 1994). Esta estructura se localiza aproximadamente a 0,22 μ m del disco Z (Taylor *et al.*, 1995).

El principal componente proteico de los filamentos finos es la actina, la cual se halla asociada con la nebulina y con complejos formados por tropomiosina y las tres subunidades de troponina (T, I y C). Los filamentos gruesos están formados por miosina y otras proteínas. La principal proteína asociada con

la miosina es la titina, una proteína de aproximadamente 1mm de longitud, que conecta a la miosina con el disco Z y se extiende a lo largo de ella hasta la zona H (Figura 2). La línea N₂ se correspondería con una zona de la molécula de titina que es rica en prolina, glutamina, lisina y valina (región PEVK) la cual le confiere elasticidad a esta proteína (Bennett *et al.*, 1997). La titina es una proteína importante del citoesqueleto y posee varios sitios de unión para proteínas musculares (α -actinina, actina, miosina, proteína M, miomesina y otras) (Gregorio *et al.*, 1999; Clark *et al.*, 2002)

En el citoesqueleto existen otras proteínas con funciones diversas. La α -actinina es el principal componente del disco Z. Otro grupo numeroso de pro-

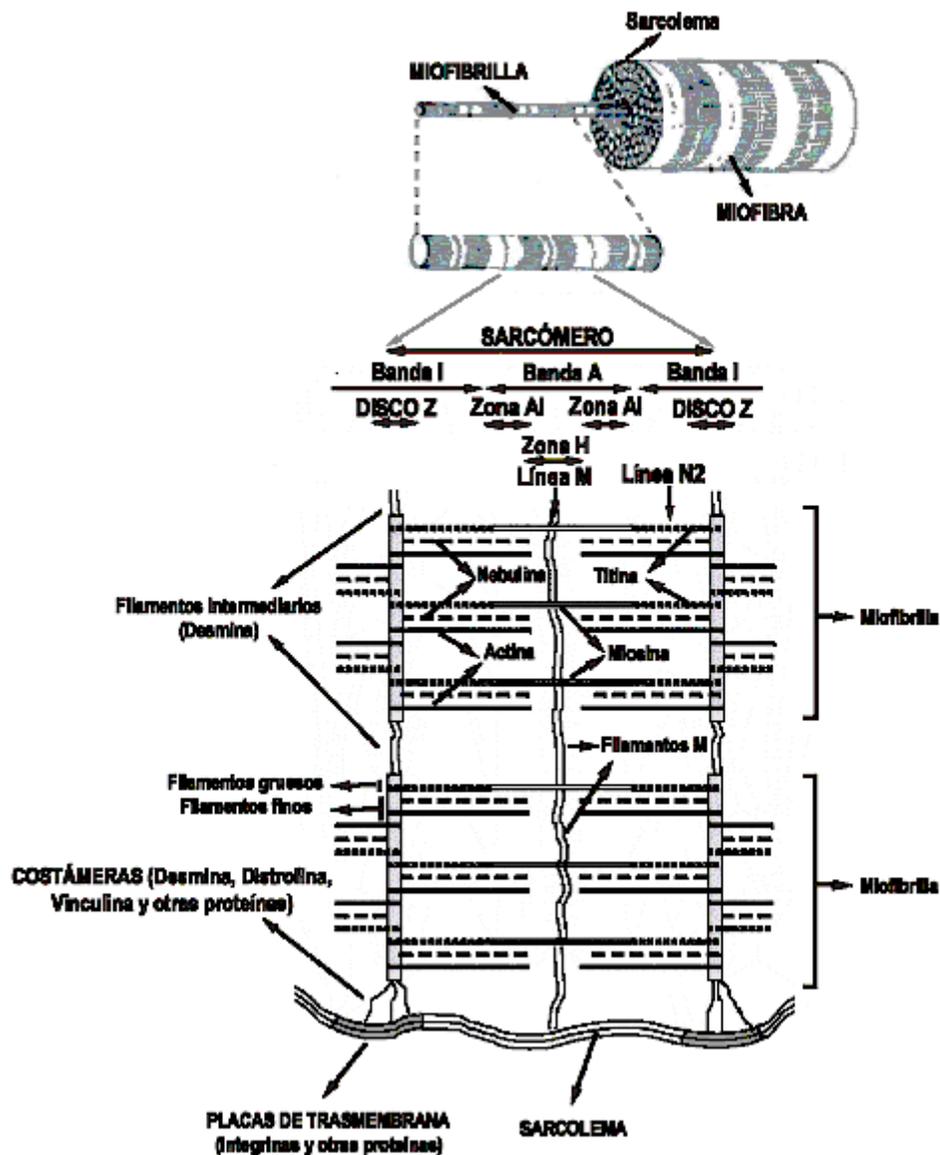


Figura 2. Esquemas de la organización de la miofibrilla y el sarcómero, donde se indican las principales proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas (Adaptado de Alberts *et al.*, 1994 y Taylor *et al.*, 1995)

teínas, de las cuales las principales son las integrinas, talina, vinculina, b-espectrina, a-actinina y distrofina, une las miofibrillas (a nivel del disco Z) al sarcolema (en sitios denominados placas de transmembra) a través de una estructura denominada costámeras. La desmina forma los filamentos intermediarios que unen miofibrillas adyacentes a nivel del disco Z y liga las miofibrillas con el sarcolema, en tanto que la miomesina se entrecruza con los filamentos gruesos en la parte central de los mismos a nivel de la línea M, sitio en el cual también se extienden filamentos que unen miofibrillas adyacentes entre sí y a éstas con el sarcolema, en forma semejante a una costámera (Figura 2) (Taylor *et al.*, 1995; Clark *et al.*, 2002).

Las costámeras, la línea N₂ y los filamentos intermediarios presentan cambios después de la muerte debido al proceso de proteólisis postmortem. Esta alteración estructural conduce a la fragmentación de las miofibrillas, que es la principal causa del aumento de la terneza de la carne.

La contracción muscular normal se produce cuando el retículo sarcoplasmico libera su contenido de Ca²⁺. Más adelante se describirá cómo la desorganización de este sistema y la liberación descontrolada de iones Ca²⁺ es crítica en el proceso de tiernización de la carne.

Las células musculares se encuentran rodeadas de tejido conectivo. Las células de este tejido, se hallan incluidas dentro de una intrincada matriz extracelular, que contiene proteínas fibrosas entrelazadas dentro de un gel hidratado compuesto por proteoglicanos. Las proteínas de la matriz se clasifican de acuerdo a su función en proteínas estructurales y proteínas de adhesión. Las proteínas estructurales forman las fibras de colágeno y las fibras elásticas del tejido conectivo. El colágeno es el principal componente proteico fibroso insoluble del tejido conectivo. Su precursor, el tropocolágeno, se caracteriza por tener un alto contenido de glicina, prolina e hidroxiprolina; este último aminoácido no es común en otras proteínas y por ello se lo utiliza para cuantificar indirectamente al contenido de tejido conectivo del músculo. El extremo amino de la región no-helicoidal de la molécula de tropocolágeno forma puentes intermoleculares, que junto con los puentes intramoleculares, confieren resistencia estructural al colágeno (Alberts *et al.*, 1994). La creación de puentes entre fibras de colágeno es un proceso que avanza con la edad del animal y ha sido asociado con una disminución de la terneza en animales de edad avanzada (Warriss, 2000).

Las fibras elásticas del tejido conectivo están formadas por una parte central de elastina recubierta externamente por microfibrillas compuestas por una serie de glicoproteínas, de las cuales la principal es la fibrilina (Alberts *et al.*, 1994; Ashworth *et al.*, 1999).

Según Shackelford *et al.* (1995) existe variación en el contenido de tejido conectivo entre distintos músculos del bovino. Por ejemplo, el *Semitendinosus* y el *Biceps femoris* tienen más tejido conectivo que el *Longissimus dorsi*, mientras que el *Psoas mayor* es el que tiene menor cantidad. Lo importante es que el contenido de colágeno de cada músculo se correlaciona con su grado de terneza (Wheeler *et al.*, 2000).

La información presentada en esta sección revela la complejidad y sofisticación de la estructura del músculo esquelético. Para convertir en carne de calidad esta estructura compleja que evolucionó para cumplir funciones de sostén y locomoción, es necesario que ocurran una serie de cambios que involucran la desorganización y degradación de algunos de sus componentes. Dichos cambios y los factores que los afectan se describirán en las siguientes secciones.

El proceso de maduración de la carne. Definición del nivel de terneza

Inmediatamente después del sacrificio, comienzan en el músculo esquelético una serie de procesos metabólicos anaeróbicos, debido a la interrupción de la circulación sanguínea. En esa condición, se acumula ácido láctico como producto del metabolismo y consecuentemente desciende el pH muscular. Este proceso de acidificación requiere aproximadamente 15 a 36 h. El pH final influye directamente en la conservación y el valor tecnológico de la carne; un valor apropiado de pH oscila en el rango de 5,4 a 5,8 (Warriss, 2000). Por esta razón, es relevante la magnitud de las reservas de glucógeno en el músculo, que a su vez dependerán de la dieta, del trato y el nivel de estrés de los animales antes del sacrificio (Muir *et al.*, 1998; Warriss, 2000).

En el periodo postmortem, el músculo pasa de un estado de reposo inicial en el cual presenta flexibilidad y elasticidad a un estado donde su capacidad de extensibilidad disminuye marcadamente, hasta llegar al estado de *rigor mortis*. Durante este periodo se produce un refuerzo de la unión de los filamentos de actina y miosina. Estos cambios ocurren entre las 12 y las 24 h postmortem (Warriss 2000).

La Resistencia al Corte (RC) estimada a través del método de Warner Bratzler, aumenta hasta el 71% en las primeras 24 h postmortem. Este aumento progresivo está asociado a un acortamiento de la longitud del sarcómero de alrededor de 25% (Wheeler y Koochmaraie, 1994). Cuando se previene experimentalmente el acortamiento del sarcómero por fijación de miofibrillas, durante las primeras 24 h

postmortem los valores de RC no aumentan, lo cual demuestra que el acortamiento del sarcómero es la causa de la disminución de terneza (Koohmaraie *et al.*, 1996).

El valor final de terneza resulta de un balance entre dos procesos opuestos: uno que la reduce debido a un reforzamiento de la unión actina-miosina y al acortamiento del sarcómero durante las primeras 24 h y otro que produce la tiernización, debido a un debilitamiento de la unión de proteínas miofibrilares asociado con un proceso de proteólisis de las mismas (Taylor *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996; Takahashi, 1996). Entre las 24 y 72 h postmortem los valores de la RC descienden, en tanto que la longitud del sarcómero no cambia significativamente lo cual sugiere que durante este período, la proteólisis postmortem pudiera ser relevante en la determinación de la terneza (Wheeler *et al.*, 1994).

Con relación a estos procesos, y de acuerdo a la bibliografía revisada, se podría hacer una diferenciación entre la «terneza inicial» de la carne, que depende principalmente del largo del sarcómero, el contenido y estructura de tejido conectivo y del contenido de grasa intramuscular y la «terneza final» que depende principalmente del grado de proteólisis. Las diferencias entre terneza final e inicial dependerán principalmente del tiempo de almacenamiento, que a su vez se asocia a estrategias de comercialización de cada mercado.

La tiernización postmortem ocurriría en dos etapas: una rápida provocada por la degradación de las proteínas responsables de mantener la estructura del músculo y una lenta debido a una desnaturalización del tejido conectivo intramuscular (Takahashi, 1996).

La magnitud del proceso de proteólisis postmortem sería el mayor responsable de la variación de la terneza de la carne (Koohmaraie *et al.*, 1995). La degradación de las proteínas miofibrilares comienza a las 12 h postmortem y dicho proceso es dependiente de la concentración de Ca^{2+} intracelular. Según Nishimura *et al.* (1998), la RC desciende 24 y 29% a los 10 y 14 días postmortem respectivamente, presentándose un descenso rápido durante los primeros 10 días que luego se hace más gradual, hasta descender al 56% del valor original a los 35 días postmortem.

Durante los primeros tres ó cuatro días postmortem se produce degradación de costámeras, de la línea N_2 y de los filamentos que unen miofibrillas adyacentes (Taylor *et al.*, 1995). Las proteínas miofibrilares involucradas en dicho proceso son intramiofibrilares, intermiofibrilares y proteínas que ligan miofibrillas con el sarcolema a través de las costámeras (Koohmaraie, 1996).

La degradación de estas proteínas musculares es producida por tres sistemas de enzimas y sus

cofactores (Oddy *et al.*, 2001) que en el animal vivo participan en el crecimiento, atrofia y remodelación del tejido muscular. Estos son las catepsinas lisosomales, el sistema de la ubiquitina proteosomal y las enzimas activadas por calcio (calpaínas/calpastatina). En el caso del colágeno, la degradación está a cargo de las metaloproteinasas de la matriz extracelular.

La coincidencia entre los sustratos y productos de la proteólisis catalizada por las calpaínas y los productos normales de la degradación proteica durante la maduración de la carne, sugieren que las mismas tendrían un rol principal en el proceso de tiernización (Oddy *et al.*, 2001). El sistema de las enzimas activadas por calcio involucra a tres proteínas endógenas del músculo: dos proteasas y el inhibidor natural de las mismas, la calpastatina. Las calpaínas son cistein-proteasas activadas por Ca^{2+} . Se conocen dos isoformas ubicuas (m-CAPN y m-CAPN) y muchas otras de distribución específica según tejido, entre ellas la p94 ó Calpaína III en músculo esquelético (Sorimachi *et al.*, 1994). Si bien la investigación se ha concentrado en las calpaínas ubicuas, recientemente Ilian *et al.* (2001) sugieren asociaciones significativas entre la terneza de dos músculos (*Longissimus thoracis* y *Psoas mayor*) y el nivel de expresión del gen de p94 ó Calpaína III en bovinos y ovinos ($r = 0.522$ y 0.706 , respectivamente). A pesar de ello, es aún insuficiente la información sobre el rol de p94 en la proteólisis postmortem.

La actividad de las calpaínas es absolutamente dependiente de Ca^{2+} , pero las dos isoformas ubicuas difieren en la concentración requerida para activarse *in vitro*, ya que una de ellas requiere concentraciones micromolares (m-CAPN ó Calpaína I) y la otra, concentraciones milimolares (m-CAPN ó Calpaína II). Según Suzuki y Sorimachi (1998) los requerimientos *in vitro* de Ca^{2+} para alcanzar el 50% de la actividad máxima (K_a) son 5 a 50 μM para m-calpaína y 0,2 a 1mM para m-calpaína. Sin embargo en condiciones fisiológicas (*in vivo*) ambas requieren 100-300 nM, lo que indicaría que no sólo el calcio es necesario para su activación *in vivo*. Estas isoenzimas son heterodímeros compuestos por una subunidad catalítica diferente en cada una de 80 kDa, y otra común a las dos enzimas, de 30 kDa. La subunidad mayor tiene cuatro sitios potenciales de unión de Ca^{2+} , en el extremo COOH terminal. Existe consenso en que la m-calpaína es la principal enzima responsable de la degradación de proteínas miofibrilares y otras proteínas asociadas a estas últimas, en condiciones postmortem (Taylor *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996; Boehm, *et al.*, 1998).

A pesar del cúmulo de evidencias que apuntan a las calpaínas como responsables del proceso de proteólisis muscular, existe una teoría que conside-

ra que la tiernización ocurre por efecto del calcio, independientemente de la acción enzimática (Takahashi, 1996). En concentraciones no fisiológicas de Ca^{2+} (0,1 mM) se ha podido determinar alteración de la estructura miofibrilar (degradación de titina, nebulina y desmina) y resolución del *rigor mortis* por translocación de la paratropomiosina dentro del sarcómero.

Los cambios observados a nivel de la ultraestructura de las miofibrillas durante el almacenamiento de la carne son la degradación de costámeras, que comienza a las 24 h y se completa a las 72 h postmortem y también la separación de miofibrillas adyacentes por degradación de miofilamentos intermediarios de desmina. A nivel del disco Z no se ha observado alteración estructural antes de los 16 días postmortem, en tanto que aparecen áreas de degradación en la banda I, cerca del disco Z en una zona próxima a la línea N_2 (Taylor *et al.*, 1995).

A nivel de las costámeras, la vinculina resulta ser la proteína más susceptible a la degradación por calpaínas, proceso que se inicia a las 24 h postmortem, mientras que la desmina comienza a ser degradada entre las 24 y las 72 h postmortem (Taylor *et al.*, 1995). La proporción y extensión de la degradación de vinculina podrían estar relacionadas con el grado de tiernización de la carne. Otra proteína que comienza a ser degradada a partir de las 24 h postmortem y desaparece a los 6 días postmortem, es la distrofina.

La línea N_2 es también una de las estructuras degradadas por calpaínas. La proteólisis de titina y nebulina se produce durante las primeras 72 h postmortem. En los músculos *Biceps femoris* y *Semitendinosus* se observa proteólisis del 25% del contenido de nebulina en las primeras 24 h, en tanto que titina resulta clivada cerca del disco Z (aproximadamente a 0,1 mm) a partir de las 24 h y hasta las 72 h. Los cambios proteolíticos de titina y nebulina explicarían el incremento de fragilidad de la banda I, próximo a la línea N_2 (Taylor *et al.*, 1995). El cambio estructural de titina descrito por este último autor, fue confirmado por Boyer-Berri y Greaser (1998). En ovinos se ha hallado degradación de desmina y troponina T entre las 24 y 72 h postmortem (Wheeler y Koohmaraie, 1994). No se ha observado degradación de actinina, actina y miosina, aún después de 14 a 18 días de almacenamiento, ya que dichas proteínas son resistentes a la proteólisis por calpaínas (Taylor *et al.*, 1995).

En lo que respecta al tejido conectivo, según Nishimura *et al.* (1998) en el músculo *Semitendinosus* comienzan a detectarse alteraciones estructurales a partir de los 14 días postmortem. La degradación de proteoglicanos por la b-glucuronidasa determina se-

paración de las fibras de colágeno. A los 28 días postmortem y a 4°C ya ha desaparecido la mayor parte del proteoglicano asociado a las fibras de colágeno, haciéndolo más susceptible al ataque enzimático de las metaloproteinasas (MMPs). Según Takahashi (1996) las concentraciones 0,1 mM de Ca^{2+} también provocan la destrucción de la estructura del perimisio y el endomisio. El sistema de MMPs del músculo esquelético es muy complejo e incluye dos colagenasas (MMP-1 y MMP-13), una gelatinasa (MMP-2 ó MMP-9) y otras proteínas o factores de activación e inhibición de dichas MMPs. Las colagenasas desnaturalizan las fibras de colágeno, que así pueden ser degradadas a péptidos de corta longitud por acción de las gelatinasas (Balcerzak *et al.*, 2001). La fibrilina, proteína de las fibras elásticas del tejido conectivo, también es susceptible a la degradación por metaloproteinasas (Ashworth *et al.*, 1999).

Percepción y medición de la terneza de la carne

Un serio problema vinculado a la comercialización de la carne es la inconsistencia en la predicción de la terneza (Koohmaraie, 1995) por lo que el tema ha sido prioritario para ganaderos e industriales. Prueba de ello es que existe mucho interés en implementar mecanismos para clasificar la carne por su grado de terneza antes de que la misma sea ofrecida al consumidor (Shackelford *et al.*, 1999).

Tomando como referencia el mercado estadounidense, puede afirmarse que los consumidores de carne tienen buena percepción de las diferencias en terneza, son exigentes en cuanto a esta característica (Miller, 1992) y están dispuestos a pagar un mayor precio por los cortes más tiernos (Boleman *et al.*, 1997). Por ejemplo, el corte constituido por el *Psoas mayor* es de muy alto valor debido a su terneza, aunque no sea el de mayor jugosidad y sabor cuando se compara con el resto de los nueve músculos de mayor valor (Shackelford *et al.*, 1995).

Consideramos que una premisa de las metodologías utilizadas en investigación es tratar de acercarse lo más posible en las evaluaciones a esa percepción de la terneza por parte de los consumidores. Y esto es a veces una complicación, ya que las experiencias que requieren mediciones de terneza resultan complejas y costosas. Para lograr estimaciones directas de terneza, se ha utilizado el método «sensorial», en el cual un panel de degustadores entrenados evalúan no sólo la terneza o textura sino también la jugosidad, el sabor y el aroma de la carne cocida y la clasifican de acuerdo a su palatabilidad, utilizando escalas arbitrarias creadas para este fin.

En estos casos se siguen protocolos estandarizados que determinan extracción y preparación de la muestra de carne y también método y tiempo de cocción.

Una alternativa a la evaluación sensorial, también muy difundida, es la estimación de la terneza mediante métodos indirectos o «instrumentales» que se basan en la compresión, tensión o corte de la fibra muscular. El más utilizado es el método de Warner Bratzler (WB), que se basa en la medición de la fuerza requerida para efectuar un corte de una muestra de carne en el sentido perpendicular a las fibras musculares. Obviamente, la percepción sensorial de la terneza involucra a factores que no se limitan a las variables medidas mediante instrumentos como la RC. Sin embargo, la práctica ha demostrado que el método de Warner Bratzler es el que tiene mayor correlación con el método sensorial (Tornberg, 1996).

La medición de RC se lleva a cabo en distintos momentos posteriores al sacrificio. Shackelford *et al.* (1997) han determinado que el valor de RC del *Longissimus dorsi* a las 24 h postmortem es un buen predictor de dicho valor a los 14 días ($r = 0.75$). Sin embargo, existe una alta variabilidad en la magnitud de la correlación entre la RC y la terneza determinada por el método sensorial cuando se comparan diferentes músculos (Shackelford *et al.*, 1995).

La medición de RC también se realiza en algunos laboratorios con una variante, la medida de compresión de la carne (Perry *et al.*, 2001). El dato de compresión se considera un mejor estimador del efecto del contenido de tejido conectivo, más que del grado de fragmentación de miofibrillas (Burrow *et al.*, 2001).

En las evaluaciones de calidad de carne también se incluyen otras variables por su valor predictivo con relación a la terneza. Entre ellas se encuentran el contenido de grasa intramuscular y el contenido de tejido conectivo (Whipple *et al.*, 1990; Shackelford *et al.*, 1994a; Wheeler *et al.*, 2000). El nivel de veteado y el contenido de tejido conectivo pueden explicar hasta el 20% de la variación en terneza entre animales (Crouse *et al.*, 1989; Shackelford *et al.*, 1994b).

Otras mediciones que han sido reportadas por su asociación con la terneza de la carne y su potencial predictivo involucran metodologías bioquímicas más básicas, como la medición del largo del sarcómero, la fragmentación de miofibrillas y el grado de proteólisis de proteínas específicas (Wheeler *et al.*, 2002)

El estudio de los sistemas proteolíticos que actúan en el músculo esquelético y que serían responsables de la tiernización postmortem, ha permitido también evaluar otros sistemas de predicción de la terneza. Por ejemplo, se ha comparado la actividad de calpastatina *in vivo* en toros y novillos, encontrando que la actividad *in vivo* es buena predictora de la actividad postmortem y que ésta a su vez se correlaciona con la RC (Woodward *et al.*, 2000). De-

bido a la complejidad y costo de algunas de estas mediciones, no obstante su utilidad, no se dispone de estimaciones de parámetros genéticos para todas ellas, lo que en cierta forma limita su utilidad en programas de mejoramiento genético.

Las causas de la variación de la terneza: Factores genéticos y ambientales

Factores genéticos

No obstante la gran influencia de factores ambientales, se ha confirmado que la constitución genética es una fuente importante de variación en la terneza de la carne, tanto entre como dentro de razas, información detallada sobre diferencias entre razas ha sido reportada recientemente por Marshall (1999) y Burrow (2001). El Programa de Evaluación de Germoplasma que el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos lleva en su estación experimental de Clay Center (Nebraska) es tal vez una de las evaluaciones más completas a nivel mundial de razas y cruzas en todas las etapas del ciclo de producción de carne. Los resultados de este programa han demostrado que en general, en lo que se refiere a terneza existen diferencias pequeñas entre razas originadas en *Bos taurus*. Sin embargo, las razas de origen continental producirían carne ligeramente más dura que las razas británicas; dichas razas también presentan menor contenido de grasa intramuscular, uno de los factores que puede explicar las pequeñas diferencias entre valores de RC (Marshall, 1999).

Por otro lado, consistentemente se ha detectado que las razas de origen índico producen carne menos tierna que las razas europeas. Este aspecto de la relación entre genética y terneza es de gran relevancia para los países latinoamericanos, ya que la utilización de razas cebuinas en sistemas de producción de carne es una necesidad por cuestiones agroclimáticas; sin embargo, el conocimiento de una menor terneza de su carne comparada con las razas europeas, lleva en igualdad de condiciones a una menor aceptación de estas reses y una depreciación de su valor.

Crouse *et al.* (1989) y Shackelford *et al.* (1995) han demostrado que la terneza de distintos músculos disminuye progresivamente a medida que aumenta el porcentaje de genes cebuinos en las cruzas, siendo esto más evidente cuando la contribución de la raza índica excede el 25%. La menor terneza de la carne atribuida a las razas cebuinas en comparación con las europeas está relacionada con una mayor Actividad de Calpastatina a las 24 h. postmortem en las primeras. La Actividad de Calpastatina se ha halla-

do altamente asociada con la terneza y la misma se incrementa linealmente con el aumento del porcentaje de genes Brahman en animales cruzados, hasta alcanzar su máximo en animales Brahman puros (Wheeler *et al.*, 1990; Whipple *et al.*, 1990; Shackelford *et al.*, 1991). También la relación calpastatina/m-calpaína se incrementa linealmente con el aumento del porcentaje de raza cebuina en la cruce. Esta relación ha sido sugerida como una buena medida del potencial proteolítico del músculo (Pringle *et al.*, 1997). De hecho, la diferencia en la tasa de tiernización justificaría las diferencias en RC detectadas a los diez días de maduración de la carne entre novillos Angus y cruces con Brahman, que no se detectaban a los tres días (Bidner *et al.*, 2002).

Un aspecto relevante en la evaluación de cruces es la manifestación de heterosis. Este fenómeno genético es la causa por la cual en ciertos casos, la producción de animales cruzados se aparta del promedio estimado a partir de los niveles de producción de las razas parentales, superioridad que se visualiza por la manifestación de la heterosis. Si bien existen importantes niveles de heterosis en bovinos para características de reproducción y crecimiento, no sería el caso de las variables asociadas a calidad de carne (Marshall, 1999).

Debido al desconocimiento de los genes involucrados, la evaluación de la variabilidad genética intra-racial se ha realizado a través de metodologías de genética cuantitativa. Un resumen de los parámetros genéticos (heredabilidad y correlaciones genéticas) asociados con calidad de la carne ha sido comunicado recientemente por Marshall (1999). En el Cuadro 1 se indica para cada característica de relevancia la heredabilidad promedio, el correspondiente rango de valores y el número de estudios.

La heredabilidad es la fracción de la variabilidad de una característica que puede ser atribuida a diferencias en el valor génico de los individuos y que por lo tanto determinará la eficacia de la selección artificial. Las variables de calidad de carne tienen heredabilidad moderada, y en las variables que uti-

lizan mediciones bioquímicas rigurosas las estimaciones de heredabilidad más altas. Al considerar la variabilidad genética es también importante evaluar las correlaciones genéticas entre los valores de diferentes atributos. Estas correlaciones se originan cuando un gen o grupo de genes controla más de un proceso en la expresión fenotípica de dos o más características y en menor grado cuando existe ligamiento estrecho entre ellos. El rango de valores para las correlaciones genéticas (r_g) entre pares de características, se presenta en el Cuadro 2. De ellas la más importante pareciera, por la consistencia experimental, magnitud y signo, la correlación entre terneza y RC.

Los parámetros genéticos presentados corresponden a experimentos realizados con diversos grupos raciales. Sin embargo, una clasificación de esos experimentos de acuerdo a las razas involucradas, indica valores relativamente más bajos de heredabilidad para las razas *Bos taurus* en comparación con las razas *Bos indicus*, coincidentemente con los resultados de las comparaciones inter-raciales (Burrow *et al.*, 2001; Robinson *et al.*, 2001). Esto implica que en las razas índicas habría mayor oportunidad para una mejora de la terneza a través de estrategias de mejoramiento.

Una complicación que surge al comparar evaluaciones de composición corporal y calidad de carne es la heterogeneidad en el punto final de cada experimento. El momento del sacrificio puede determinarse sobre la base de una edad, peso o terminación constante; las comparaciones en un punto de terminación constante parecen ser el que brinda los resultados más consistentes (Burrow *et al.* 2001).

Una deficiencia importante de las estimaciones de parámetros genéticos es que en la mayoría de los casos, se han basado en determinaciones sobre el músculo *Longissimus dorsi*; sin embargo, la correlación entre los valores a nivel de este músculo y el resto de las masas musculares es en general baja (Shackelford *et al.* 1995).

Factores ambientales

Es importante destacar el impacto de diferentes efectos ambientales sobre los valores finales de la

Cuadro 1. Valores de heredabilidad estimados para diferentes caracteres relacionados con calidad de carne (adaptado de Marshall, 1999).

| Característica | Heredabilidad (h^2) | | Número de experimentos |
|-------------------------------|-------------------------|-------------|------------------------|
| | Promedio | Rango | |
| Grasa intramuscular | 0,54 | 0,26 a 0,93 | 6 |
| Terneza | 0,22 | 0,03 a 0,50 | 12 |
| Resistencia al corte | 0,25 | 0,02 a 0,53 | 10 |
| Fragmentación de miofibrillas | 0,39 | 0,17 a 0,58 | 3 |
| Actividad de calpastatina | 0,43 | 0,15 a 0,65 | 4 |

Cuadro 2. Correlaciones genéticas estimadas entre distintos pares de características relacionadas con calidad de carne (adaptado de Marshall, 1999).

| Características | Correlación genética (r_g) | | Número de experimentos |
|-------------------------------------|--------------------------------|---------------|------------------------|
| | Promedio | Rango | |
| Terneza y RC ¹ | -0,86 | -0,64 a -1,00 | 9 |
| Terneza y veteado | 0,38 | 0,00 a 0,90 | 9 |
| Terneza y Actividad de calpastatina | -0,70 | -1,00 a 0,00 | 3 |
| RC y veteado | -0,47 | -1,00 a 0,28 | 10 |
| RC y Actividad de calpastatina | 0,63 | 0,35 a 1,00 | 4 |

¹ Resistencia al corte.

terneza. La relación entre las prácticas de alimentación, manejo y sacrificio de los animales y la elección de las razas de acuerdo a limitaciones climáticas y nutricionales, son todos factores que definen los valores de terneza a obtener en una situación dada. La consideración de este conjunto de factores es importante al momento de diseñar experimentos, comparar e interpretar resultados y extraer conclusiones. Para destacar la relevancia de los efectos no genéticos, puede mencionarse que incluso la forma en que se cuelga la res con posterioridad al sacrificio influye en la tensión que se ejerce sobre diferentes músculos y en el grado final de terneza que tendrán los mismos (Ferguson *et al.*, 2001).

Algunas características intrínsecas del músculo (tipo de fibras; proporción de tejido conectivo, muscular y adiposo) resultan poco afectadas por los procesos post-faena o por la cocción de la carne. Sin embargo, otros tales como la estructura de las miofibras, el contenido de glucógeno y la actividad proteolítica interactúan con el estrés pre-faena, con los tratamientos de la res y con el tiempo y temperatura de almacenamiento, determinando la terneza final de la carne (Oddy *et al.*, 2001). Tratamientos tales como la estimulación eléctrica y la inyección de sales de calcio tienen por finalidad incrementar la terneza de la carne, favoreciendo o acelerando los procesos que la misma sufre durante el almacenamiento. La estimulación eléctrica de las reses produce intensa contracción muscular lo que promueve la glucólisis y el descenso rápido del pH. La carne alcanza naturalmente un valor de pH próximo a 6,0 a las 10 ó 12 h postmortem, en el caso de la estimulación eléctrica este descenso puede producirse en 1 a 2 h. El descenso brusco del pH influye en un temprano desarrollo del *rigor mortis*, seguido de una rápida resolución del mismo, de modo que el músculo alcanza rápidamente el estado relajado. El calcio intracelular se libera más rápidamente y consecuentemente hay activación de calpaínas, lo que determina que se acelere la proteólisis. Todos estos cam-

bios afectan la textura del músculo. En ovinos este tratamiento produce un descenso del valor de RC de aproximadamente el 50%. Según Koohmaraie *et al.* (1988) la tiernización postmortem de la carne bovina también se puede incrementar mediante la inyección de Cl_2Ca (0,3M) lo que acelera la proteólisis producida por las calpaínas. Sin embargo, la estimulación eléctrica y las altas concentraciones de Cl_2Ca pueden afectar la palatabilidad de la carne, al alterar su sabor (Warriss, 2000).

La consideración de los factores ambientales al momento de comparar grupos genéticos o incluso evaluar genes específicos es relevante porque la introducción de una práctica determinada, como la electroestimulación de las canales, puede afectar la variabilidad detectada entre y dentro de grupos raciales y sesgar los resultados (Robinson *et al.*, 2001).

Algunas prácticas de manejo con efectos sobre la terneza también son útiles para identificar vías metabólicas específicas que a su vez permiten detectar genes involucrados en las mismas. Este conocimiento tiene relación con la identificación de «genes candidatos». Por ejemplo, en ciertas condiciones la administración de vitamina D a los animales durante el periodo de engorde mejora la terneza de la carne (Montgomery *et al.*, 2002), apuntando al metabolismo del calcio como un objetivo para el estudio y manipulación de la terneza.

El tipo de alimentación no afecta a la terneza, el sabor, color, veteado y pH de reses de similar peso y grado de veteado (Muir *et al.*, 1998). Sin embargo, los animales que crecen rápidamente producen carne más tierna que los que lo hacen en forma lenta, por lo que el nivel de ganancia de peso de los animales antes de la faena es otro factor relacionado con la terneza. Esto ha sido atribuido al nivel de recambio proteico a nivel muscular, el cual es más alto en los primeros (Muir *et al.*, 1998). Dicho recambio está también influenciado por el genotipo, la edad, el nivel nutricional y factores hormonales. Se ha demostrado que gran parte de la variación en la degradación

proteica medida *in vivo* es debida a la actividad de las calpaínas y una alta tasa de recambio de proteínas *in vivo* está asociada con un alto nivel de proteólisis *postmortem* (Oddy *et al.*, 2001). Shackelford *et al.* (1994a) reportaron una correlación genética negativa ($r_g = -0,52 \pm 0,37$) entre la Actividad de Calpastatina y la ganancia diaria de peso, ya que una mayor actividad proteolítica afecta la eficiencia de conversión del alimento (McDonagh *et al.*, 2001).

El tipo de alimentación y el estrés pre-faena afecta el nivel de reservas de glucógeno a nivel muscular y esto se relaciona con la tasa de descenso de pH y su valor final en la carne, lo cual influencia el color y la terneza de la carne. La actividad del sistema proteolítico responsable de la tiernización es dependiente del pH, la temperatura y la concentración de calcio (Muir *et al.*, 1998; Koohmaraie, 1992). Los animales sometidos a estrés antes de la faena poseen menores reservas de glucógeno muscular; esto determina una menor producción de ácido láctico por fermentación anaeróbica del glucógeno y en consecuencia el pH final de la carne es más alto. Cuando el pH final es $\geq 6,2$ a nivel del *Longuissimus dorsi*, la carne es más oscura, firme y seca. Un valor de pH final alto resulta en una escasa proteólisis y además la carne presenta una elevada capacidad de retención de agua, lo que determina una estructura proteica más compacta (Tornberg, 1996; Warriss, 2000).

A medida que aumenta la edad del animal la terneza de la carne disminuye. Por esta razón, en algunos sistemas de producción de carne el consumidor asocia a un animal joven con una mayor probabilidad de obtener carne más tierna, y esto lleva a que esas categorías livianas logren precios por kilogramo mucho más altos que los animales más pesados. Esto tiene una importante relación con el potencial genético para crecimiento de las distintas razas y cruza. Los individuos con mayor potencial de crecimiento y eficiencia en la conversión de alimento difícilmente puedan alcanzar la composición corporal adecuada para ser faenados a pesos livianos. De manera que a la maximización de la eficiencia biológica de la producción de carne se contraponen la rentabilidad comercial y el interés por producir un tipo de carne con más éxito en el mercado.

Predicción de la terneza mediante métodos de genética molecular

Generalidades

La selección basada en la evaluación genética de los animales a partir de las mediciones fenotípicas tradicionales ha permitido lograr progresos muy importantes en bovinos para carne. Esta mejora

genética se ha basado en identificar a los animales superiores de una población determinada, prediciendo su Valor de Cría a partir de esas mediciones, aún cuando se desconoce su constitución genética.

Sin embargo, las variables de calidad de carne son las que menos se adecuan a este esquema de selección, ya que se miden tarde en la vida del candidato y requieren en muchos casos técnicas destructivas. En la actualidad se están desarrollando técnicas moleculares que complementan el enfoque cuantitativo clásico y que abren la posibilidad de evaluar al animal vivo, a una temprana edad. La situación ideal sería poder elegir a un candidato sin incluso tener información sobre su fenotipo.

En la última década se ha avanzado mucho en el conocimiento del genoma bovino. La disponibilidad de información acerca de genes constituye una oportunidad para identificar y seleccionar a los animales directamente por su genotipo. Los esfuerzos están orientados a la creación de marcadores moleculares que asistan en la identificación de esos individuos superiores. El desarrollo de mapas genéticos en bovinos facilita esa identificación (Barendse *et al.*, 1994; Bishop *et al.*, 1994). A los fines prácticos, un marcador molecular es una secuencia de ADN de función conocida o una región anónima del genoma, Quantitative Trait Loci (QTL) asociada con el carácter de interés y que contiene al gen o a los genes en cuestión, aún no identificados.

Genes candidatos

Una de las mayores complicaciones para identificar los genes responsables de la variabilidad de atributos de importancia económica en producción animal es que sus fenotipos son de herencia compleja y no es simple establecer una relación inequívoca entre un gen y un fenotipo. De hecho, la mayoría de tales atributos muestra variabilidad de tipo cuantitativa; no es posible definir clases discretas al clasificar fenotipos y se asume que éstos están condicionados por la segregación de un número elevado de genes. Aún así, en ciertos casos ha sido posible identificar genes cuyas variantes naturales que coexisten en la población permiten explicar parcialmente la variabilidad de un fenotipo. En estos casos, se habla de un «gen candidato» (Rothschild y Soller, 1997). Si se confirma una asociación significativa entre el fenotipo y los alelos de un gen candidato, se pueden diseñar análisis de laboratorio expeditivos para identificar los animales portadores de las variantes más favorables en la población comercial, aún sin la información fenotípica correspondiente.

El gen candidato puede haberse identificado porque se tenía un conocimiento previo de la proteína respectiva. Otra forma de identificar candidatos es comparar genes homólogos en especies cuyos genomas ya han sido secuenciados en su totalidad,

como el del humano (Venter *et al.*, 2001) y el ratón (Waterston *et al.*, 2002). En todos los casos, es fundamental tener conocimiento de las bases fisiológicas y bioquímicas del fenotipo estudiado. En el caso de la terneza de la carne, la información básica necesaria para la identificación de genes candidatos fue presentada previamente.

Para reforzar la condición de candidato de un gen, también puede disponerse de «información posicional». Un gen puede tener una función asociada con un fenotipo en particular, y a su vez su posición en el genoma coincide con regiones cromosómicas que cosegregan con dicho fenotipo y que se supone tienen una función en la regulación del mismo; ambas pistas lo hacen un «candidato posicional». De hecho, se ha sugerido no basarse simplemente en la función para la identificación de un candidato, sin apoyarse también en información posicional (Haley, 1999).

Existen genes con efecto indirecto sobre la terneza. Los animales con el fenotipo de doble musculatura causado por el locus *mh* en el cromosoma 2 del bovino, manifiestan una hipertrofia muscular principalmente en los cuartos traseros. La carne tiene menos veteado pero es algo más tierna (Arthur, 1995). Estos animales tienen mutaciones en el gen de miostatina que imposibilitan la síntesis de la proteína biológicamente activa (Grobet *et al.*, 1997). El rol normal de esta proteína parece ser el control de la proliferación celular durante el desarrollo del músculo (McPherron y Lee, 1997).

La leptina es una hormona producida por el adipocito y está involucrada en el control del balance energético, el consumo de alimento y la composición corporal (Houseknecht *et al.*, 1998). Se han descrito alelos de este gen que identificarían individuos con diferente capacidad de retención de grasa y veteado (Buchanan *et al.*, 2002). Si bien se han identificado diferentes polimorfismos en su secuencia, el que parece tener efectos fisiológicos es la sustitución de citocina (C) por timina (T) en el exón 2, que a su vez conduciría a la sustitución de Arginina por Cisteína en la proteína correspondiente. El alelo T sería el que se correspondería con un mayor nivel de grasa en la canal.

El gen que codifica a la subunidad mayor de la m-calpaína (CAPN1) ha sido propuesto recientemente como un potencial gen candidato para terneza en base a información posicional (Casas *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2000). Dos mutaciones localizadas en los exones 9 y 14 en un toro Piamontés-Angus originan una sustitución de aminoácidos en la proteína respectiva. La mutación localizada en el exón 9 (GCC®GGC) provoca la sustitución de Alanina por Glicina en la posición 316 de la secuencia de la proteína (A³¹⁶®G³¹⁶) mientras que la mutación ubicada

en el exón 14 (GTC®ATC) determina el cambio de Valina por Isoleucina en la posición 530 (V⁵³⁰®I⁵³⁰). El análisis de la carne en la progenie de este toro determinó que los individuos que recibieron el haplotipo de origen Piamontés (G¹³⁶/I⁵³⁰) produjo carne menos tierna en comparación con el haplotipo Angus (A¹³⁶/V⁵³⁰). Todavía no se sabe si una o ambas mutaciones tienen implicancias funcionales en la proteína, o si sólo están ligadas a otra mutación que es la que tiene el verdadero efecto funcional (Page *et al.*, 2002).

Para el gen de la Calpastatina (CAST), el inhibidor natural de las calpaínas, se han presentado resultados experimentales confirmando (Green *et al.*, 1996a y b) y refutando (Lonergan *et al.*, 1995; Chung *et al.*, 2001) su asociación con la variabilidad en terneza. Debe recordarse que factores como el número limitado de animales y la influencia de las condiciones de faena pueden enmascarar efectos genéticos reales y de ahí la existencia de información contradictoria. Además, no necesariamente un alelo con efectos detectables debe estar presente en todas las poblaciones evaluadas.

Recientemente dos pruebas genéticas relacionadas con la calidad de la carne han sido puestas en el mercado por una compañía australiana (<http://www.geneticsolutions.com.au/>). Una de ellas distingue alelos del gen de tiroglobulina, que supuestamente afectaría el nivel de grasa intramuscular e indirectamente la terneza. La otra prueba detecta alelos del gen de calpastatina. En la población de bovinos australianos, el alelo de «mayor terneza» está en alta frecuencia en razas europeas, pero en frecuencias intermedias en las razas índicas. En la raza Brahman, la diferencia en RC reportada entre las dos clases genotípicas homocigotas fue de 0,44 Kg (9% de la media).

El grupo de enzimas que degradan la matriz extracelular del tejido conectivo, las metaloproteinasas, también es objeto de estudio por su posible rol en el proceso de tiernización postmortem (Schmutz *et al.*, 2000), pero no hay aún resultados reportados al respecto.

El genoma mitocondrial también ha sido estudiado por su posible efecto sobre variables productivas. En el caso de variables como producción de leche y crecimiento, los resultados experimentales no han sido alentadores. El genoma mitocondrial explicaría en esos casos una fracción casi despreciable de la varianza. Un solo trabajo hasta el momento ha reportado efectos muy significativos de ciertos polimorfismos mitocondriales sobre composición corporal y calidad de carne en Ganado Negro Japonés (Mannen *et al.*, 1998), pero estos resultados no han podido ser reproducidos y aguardan confirmación.

Regiones cromosómicas o Loci de caracteres cuantitativos (QTL)

Una estrategia para identificar a los genes involucrados en la variación de caracteres cuantitativos, se basa en detectar su posición en el genoma independientemente de su función. Lo que se intenta es individualizar regiones cromosómicas (QTL) que segregan simultáneamente con el carácter en estudio y que pudieran contener a los genes que controlan al mismo.

En bovinos para carne uno de los diseños más comunes para crear una población apropiada para el mapeo de QTL ha sido la formación de familias de medios-hermanos paternos. En general, el progenitor de esas familias es un toro F1, cruza de dos razas contrastantes. Para cada locus, este reproductor producirá gametos con alelos originados en una de las dos razas parentales. En otras ocasiones se han utilizado esquemas de multiovolución y transferencia embrionaria para crear las familias para mapeo, dentro de una misma raza (Schmutz *et al.*, 2001).

Para identificar QTL se cubre el genoma con marcadores moleculares («genome scan»). En este caso, los marcadores son secuencias altamente polimórficas, sin función conocida pero que pueden identificarse consistentemente en el laboratorio. Mediante análisis estadísticos es posible vincular la segregación de estos marcadores en la familia con la variación en el fenotipo estudiado, determinando el efecto significativo sobre dicha variable de ciertas regiones cromosómicas.

Lamentablemente, dada la importancia comercial de los marcadores genéticos para calidad de carne sólo una parte de los resultados experimentales de mapeo de QTL para terneza se han hecho públicos. Entre los resultados disponibles, se destacan los obtenidos a partir de la progenie de un toro Piamontés-Angus y que indican la existencia de un QTL en los cromosomas bovinos (BTA) 5 y 29 (Casas *et al.*, 2000). Para el QTL en BTA29 la diferencia entre los efectos de los alelos de origen Piamontés y Angus fue 0,42 Kg. El análisis comparativo de BTA29 demostró regiones homólogas con el cromosoma 11 del humano. Así se pudo establecer como el candidato posicional más probable al gen CAPN1, ya que el gen mapea a 56 centimorgan (cM) del extremo centromérico de BTA29 y estaba comprendido dentro del intervalo de confianza establecido por Casas *et al.* (Smith *et al.*, 2000). Este hallazgo fundamentó el estudio del gen CAPN1 realizado por Page *et al.* (2002). Por otra parte, el gen de la colagenasa 3 (MMP13), también se ubica en BTA29 en la proximidad del QTL y podría habérselo considerado candidato.

El QTL en BTA5 está ubicado a 70 cM del extremo centromérico y próximo al locus de IGF1. BTA5 presenta homología con el cromosoma humano 12, y en la región próxima a IGF1 también mapean varios genes relacionados con desarrollo muscular (MYF6, MYF5 y MYBPC1) y genes que codifican dos metaloproteinasas (MMP17 y MMP19). La relación entre esa región cromosómica y el desarrollo muscular se ha detectado también en cerdos y ratones (Casas *et al.*, 2000); sin embargo la falta de candidatos obvios obliga a continuar el trabajo de mapeo para refinar la posición del QTL.

El mismo grupo de investigación identificó otro QTL con influencia sobre la terneza en la progenie de un toro Brahman-Hereford. El QTL, ubicado a los 28 cM de BTA15, tuvo efectos variables en distintos grupos de faena. En uno de los grupos, el efecto fue de 0,8 desvíos estándar (0,7 kg) y explicó el 19% de la variancia fenotípica. En esa región de BTA15 habría tres genes candidatos: CALCA (calcitonina), MMP1 y MYOD1 (Myogenic Determination Factor 1) (Rexroad *et al.*, 2001). Calcitonina podría ser un importante candidato posicional para este QTL, ya que se trata de una hormona relevante en el metabolismo del calcio y todas las teorías sobre la tiernización de la carne involucran al calcio intracelular de alguna u otra manera. Recientemente, un análisis basado en metodologías bioinformáticas, propuso un nuevo candidato en esta región (Harhay y Keele, 2003). El gen CRYAB codifica una proteína chaperona; defectos en la misma conducirían a la acumulación de desmina y a la ocurrencia de miopatías.

Uno de los primeros experimentos en producir resultados sobre QTL asociados con variación en crecimiento, características de la res y calidad de carne en bovinos fue realizado en Australia (Hetzl y Davis, 1997). Se utilizaron tres toros Brahman-Charolais para crear las respectivas familias. En este experimento, se encontraron QTL para diversas variables asociadas a la terneza, con un rango de efectos de 0,5 a 0,8 desvíos estándar. Un resultado interesante de esta experiencia es que hubo poca coincidencia en la posición de QTL correspondientes a las mismas variables cuando fueron medidas en distintos músculos.

Otro experimento de mapeo destacado por su envergadura se condujo en la Universidad de Texas A&M (Taylor y Davis, 1997). En este caso, mediante transferencia embrionaria se crearon 32 familias $\frac{3}{4}$ Angus, $\frac{1}{4}$ Brahman y $\frac{1}{2}$ Brahman-Angus y al menos siete QTL vinculados a terneza fueron identificados. Tanto en este caso como en el anterior, la información permanece confidencial.

Para tener idea de la magnitud del trabajo experimental que significa llegar desde un QTL al gen en cuestión, es necesario comprender que la capacidad

de resolución de la mayoría de los experimentos permite posicionar al QTL en un intervalo de confianza de 20 a 30 cM. De acuerdo a las presentes estimaciones de tamaño del genoma y número de genes, un intervalo de esa magnitud puede representar 20 a 30 millones de pares de nucleótidos y contener 200 a 300 genes. A menos que aparezcan candidatos obvios en esa región, es necesario continuar integrando información posicional, funcional y de mapeo comparativo entre especies para dar con el gen correspondiente y desarrollar un marcador de aplicación comercial.

Perspectivas futuras

La terneza es un atributo de calidad de la carne muy valorado por el consumidor, pero al mismo tiempo, muy poco consistente y difícil de medir. Por otra parte, es de baja a mediana heredabilidad y existen diferencias entre razas y cruza, lo que indica que la variabilidad de esta característica es en cierta proporción de origen genético. Por eso la búsqueda de marcadores moleculares que faciliten la identificación de individuos que potencialmente podrían producir carne más tierna es muy importante y es un área de investigación en constante avance.

La finalidad del desarrollo de estas nuevas metodologías basadas en el estudio directo de los genes que afectan la calidad de la carne, cubre dos aspectos. En primer lugar, se busca desarrollar estrategias de identificación, selección y diseminación de genotipos superiores en la población bovina. En segundo lugar, el nuevo conocimiento puede dar lugar al desarrollo de métodos sencillos y económicos con fines predictivos, que reduzcan la incertidumbre sobre la aptitud de un tipo de animal en la etapa de cría y engorde o que permitan clasificar el producto en el punto de faena, desposte y venta.

Por su propia naturaleza, los estudios de genética molecular muchas veces siguen una estrategia reduccionista, concentrándose en los efectos sobre el fenotipo de uno o de pocos genes. La genética cuantitativa en cambio, sin ningún conocimiento sobre los genes involucrados, ofrece una estimación global de valor de cría para cada individuo. Por eso, en lo que respecta al mejoramiento genético de la terneza, la mejor solución seguramente vendrá de una combinación inteligente de ambas estrategias. La combinación óptima de la información cuantitativa y molecular ha sido evaluada en varios estudios de simulación (Haley y Visscher, 1998; Dekkers y Hospital, 2002). Las proyecciones de estos estudios van dando forma a nuevas estrategias de mejoramiento genético, conocidas como «Selección Asistida por Marcadores» (SAM). En el caso particular de la ter-

neza, la información fenotípica convencional sobre crecimiento, puede integrarse con información molecular sobre calidad de carne, rubro que involucra a las variables más complicadas y costosas de medir en el ciclo de producción.

Se ha sugerido que en muchos casos el efecto de genes y QTL es sobrestimado en poblaciones experimentales. También se han evidenciado correlaciones genéticas potencialmente desfavorables entre dos características de interés, como el caso de una posible asociación entre la mayor actividad de calpaína y una menor eficiencia en la conversión de alimento (McDonagh *et al.*, 2001). Por estas razones, es necesaria la validación del impacto global de ciertos genes y QTL en la población comercial, con diferentes razas y cruza y bajo condiciones ambientales variadas.

Las pruebas genéticas disponibles para características de calidad de carne son todavía escasas. La mayoría está en manos de compañías privadas y su costo es elevado. Por ello es relevante que se continúe la investigación en universidades e instituciones oficiales para garantizar la transparencia en su utilización y facilitar el acceso a un número amplio de usuarios. Además, en algunos casos no se conocen aún genes sino regiones cromosómicas (QTL). Esto no impide su utilización en el mejoramiento, pero la limita a las familias que han sido caracterizadas con respecto a fase de ligamiento entre el QTL y los marcadores que lo flanquean (Dekkers y Hospital, 2002). Es decir, que no se puede seguir la segregación del alelo de un gen en cuestión sino de un fragmento cromosómico que contiene al gen de interés. El conocimiento de polimorfismos en un gen específico permite en cambio su aplicación al nivel de toda la población. Para reducir esta brecha en el conocimiento, se están implementando ingeniosas estrategias, como por ejemplo la construcción de colecciones de secuencias expresadas (ARN mensajero) en un tejido determinado, en este caso el músculo esquelético (Smith *et al.*, 2001) y su posicionamiento en el mapa genético juntamente con los QTL. Estas colecciones de secuencias expresadas se conocen como bibliotecas de EST (Expressed Sequence Tags). La coincidencia entre una EST y un QTL puede llevar a la identificación de un gen candidato.

El progreso de la ciencia genómica ha abierto un panorama fascinante para el trabajo en el mejoramiento genético de las poblaciones animales. El mejoramiento de los atributos de la carne y en particular de la terneza, dada su importancia económica, se verá muy pronto influenciado por esta nueva tecnología y es de esperar que esto de lugar a la producción más eficiente de carne de calidad con alta demanda por los consumidores.

Agradecimientos

Agradecemos a María Cristina Miquel la revisión del manuscrito y las sugerencias realizadas.

Literatura Citada

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y J.D. Watson. 1994. *Biología molecular de la célula*. (2da. Ed.). Editorial Omega SA, Barcelona. Capítulos 11 y 14, p 651 y p 843.
- Arthur, P.F. 1995. Double muscling in cattle: A review. *Aust. J. Agric. Res.* 46:1493.
- Ashworth, J.L., Murphy, G., Rock, M.J., Sherratt, M.J., Shapiro, S.D., Shuttleworth, C.A. and C.M. Kieley. 1999. Fibrillin degradation by matrix metalloproteinases: implication for connective tissue remodeling. *Bioch. J.* 340:171.
- Balcerzak, D., Querengesser, L., Dixon, W.T. and V.E. Baracos. 2001. Coordinate expression of matrix-degrading proteinases and their activators and inhibitors in bovine skeletal muscle. *J. Anim. Sci.* 79:94.
- Barendse, W., Armitage, S.M., Kossarek, L.M., Shalom, A., Kirkpatrick, B.W., Ryan, A.M., Clayton, D., Li, L., Neiberghs, H.L., Zhang, N., Grosse, W.M., Weiss, J., Creighton, P., McCarthy, F., Ron, M., Teale, A.J., Fries, R., McGraw, R.A., Moore, S.S., Georges, M., Soller, M., Womack, J.E. and D.J.S. Hetzel. 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics* 6:227.
- Bennett, P.M., Hodkin, T.E. and C. Hawkins. 1997. Evidence that the tandem Ig domain near the end of the muscle thick filament form an inelastic part of the I-Band Titin. *Journal Structure Biology* 129:93.
- Bidner, T.D., Wyatt, W.E., Humes, P.E., Franke, D.E. and D.C. Blouin. 2002. Influence of Brahman-derivative breeds and Angus on carcass traits, physical composition, and palatability. *J. Anim. Sci.* 80:2126.
- Bishop, M.D., Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone, R.T., Sunden S.L.F., Hawkins, G.A., Solinas Toldo, S., Fries, R., Grosz, M.D., Yoo, J. and C.W. Beattie. 1994. A genetic linkage map for bovine genome. *Genetics* 136:619.
- Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F. and D.E. Goll. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 76:2415.
- Boleman, S.J., Boleman, S.L., Miller, R.K., Taylor, J.F., Cross, H.R., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Shakelford, S.D., Miller, M.F., West, R.L., Johnson, D.D. and J.W. Savell. 1997. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. *J. Anim. Sci.* 75:1521.
- Boyer-Berri, C. and M.L. Greaser. 1998. Effect of postmortem storage on the Z-line region of titin in bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 76:1034.
- Buchanan F., Fitzsimmons C., Van Kessel A., Thue T., Winkelman-Sim D. and S. Schmutz. 2002. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol* 34:10.
- Burrow, H.M., Moore, S.S., Johnston, D.J., Barendse, W. and B.M. Bindon. 2001. Quantitative and molecular genetic influences on properties of beef: a review. *Aust. J. Exp. Agr.* 41:893.
- Casas, E., Shackelford, S.D., Keele, J.W., Stone, R.T., Kappes, S.M. and M. Koohmaraie. 2000. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *J. Anim. Sci.* 78:560.
- Chung, H.Y., Davis, M.E. and H.C. Hines. 2001. Genetic variants detected by PCR-RFLP in intron 6 of the bovine calpastatin gene. *Animal Genetics* 32:53.
- Clark, K.A., Mc Elhinny, A.S., Beckerle, M.C. and C.C. Gregorio. 2002. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 18:637.
- Crouse, J.D., Cundiff, L.V., Koch, R.M., Koohmaraie, M. and S.C. Seideman. 1989. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. *J. Anim. Sci.* 67:2661.
- Dekkers, J. C. M. and F. Hospital. 2002. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Rev. Genet.* 3:22.
- Ferguson D., Bruce H., Thompson J., Egan A., Perry D. and W. Shorthose. 2001. Factors affecting beef palatability; from farmgate to chilled carcass. *Aust. J. Exp. Agr.* 41:879.
- Green, R.D., Cockett, N.E., Tatum, F.D., O'Connor, S.F., Hancock, D.L. and G.C. Smith. 1996b. Association of a *TaqI* calpastatin polymorphism with postmortem measures of beef tenderness in Charolais and Limousin-sired steers and heifers. *J. Anim. Sci.* 74 (Supplement 1) 113 (Abstr.).
- Green, R.D., Cockett, N.E., Tatum, F.D., O'Connor, S.F., Hancock, D.L. and G.C. Smith. 1996a. Association of a *TaqI* calpastatin polymorphism with postmortem measures of beef tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus*-*Bos taurus* steers and heifers. *J. Anim. Sci.* 74 (Supplement 1) 111 (Abstr.).
- Gregorio, C.C., Granzier, H., Sorimachi, H. and S. Labeit. 1999. Muscle assembly: a titanic achievement? *Curr. Opin. Cell. Biol.* 11:18.
- Grobet, L., Martin, L. J., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J., Schoeberlein, A., Dunner, S., Ménéssier, F., Massabanda, J., Fries, R., Hanset, R. and M. Georges. 1997. A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat. Genet.* 17: 71.
- Haley, C. 1999. Advances in Quantitative Trait Locus mapping. In: *From Jay Lush to Genomics: Visions for animal breeding and genetics*, 16-18 May 1999, Ames, USA.. Dekkers, J.C.M., Lamont, S.J. and M.F. Rothschild (Ed.) *AgBiotechNet (Proceedings 1)* p 47.
- Haley, C. S. and P.M. Visscher. 1998. Strategies to utilize Marker-Quantitative trait loci associations. *J. Dairy Sci.* 81: 85.
- Harhay G.P. and J.W. Keele. 2003. Positional candidate gene selection from livestock EST databases using Gene Ontology. *Bioinformatics.* 19 (2):249.
- Hetzel, J. and G. Davis. 1997. Mapping quantitative trait loci: a new paradigm. In: *Proceedings, Beef Cattle Genomics: Past, Present and Future*. Texas A & M University, College Station, Texas, p 24.
- Houseknecht, K. L., Baile, C. A., Matteri, R. L. and M.E. Spurlock. 1998. The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 76:1405.
- Illian, M.A., Morton, J.D., Kent, M.P., Le Couteur, C.E., Hickford, J., Cowley, R. and R. Bickerstaffe. 2001. Intermuscular variation in tenderness: Association with the ubiquitous and muscle-specific calpains. *J. Anim. Sci.* 79:122.
- Kappes, S.M. 1999. Utilization of gene mapping information in livestock animals. *Theriogenology* 51: 135.
- Koohmaraie, M. 1992. Effect of pH, temperature, and inhibitors of autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle m-calpain. *J. Anim. Sci.* 70:3071.
- Koohmaraie, M., Wheeler, T.L. and S.D. Shackelford. 1995. Beef tenderness: Regulation and Prediction. *CSIRO Meat '95 Proc.* p4A-1.
- Koohmaraie, M. 1995. The biological basis of meat tenderness and potential genetic approaches for its control and prediction. *Proc. Annu. Meat Conf.* 48:69.
- Koohmaraie, M., Doumit, M.E. and T.L. Wheeler. 1996. Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented. *J. Anim. Sci.* 74:2935.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the

- toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43:S193.
- Koohmaraie, M., Babiker, A.S., Schroeder, A.L., Merkel, R.A. and T.R. Dutson. 1988. Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses through activation of Ca^{2+} -dependent proteases. *J. Food Sci.* 53:1838.
- Loneragan, S.M., Ernst, C.W., Bishop, M.D., Calkins, C.R. and M. Koohmaraie. 1995. Relationship of restriction fragment length polymorphisms (RFLP) at the bovine calpastatin locus to calpastatin activity and meat tenderness. *J. Anim. Sci.* 73:3608.
- Mannen, H., Kojima, T., Oyama, K., Mukai, F., Ishida, T. and S. Tsuji. 1998. Effect of mitochondrial DNA variation on carcass traits of Japanese Black cattle. *J. Anim. Sci.* 76:36.
- Marshall, D.M. 1999. Genetics of meat quality. In: *The genetics of cattle*. R.F. Fries and A. Ruvinsky (Ed.). CABI Publishing, New York. p 605.
- Mc Donagh, M.B., Herd, R.M., Richardson, E.C., Oddy, V.H., Archer, J.A. and P.F. Arthur. 2001. Meat quality and the calpain system of feedlot steers following a single generation of divergent selection for residual feed intake. *Aust. J. Exper. Agric.* 41:1013.
- McPherron, A.C. and S.J. Lee. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12457.
- Miller, B. 1992. Understanding consumers. *Beef today* 8:40.
- Montgomery J., Carr M., Kerth C., Hilton G., Price B., Galyean M., Horst R. and M. Miller . 2002. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. *J. Anim. Sci.* 80:971.
- Muir, P.D., Deaker, J.M and M.D. Brown. 1998. Effects of forage and grain based feeding system on beef quality: A review. *New Zealand J. Of Agric. Res.* 41:623.
- Nishimura, T., Liu, A., Hattori, A. and K. Takahashi. 1998. Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem aging of beef. *J. Anim. Sci.* 76:528.
- Oddy, V.H., Harper, G.S., Greenwood, P.L. and M.B. McDonagh. 2001. Nutritional and developmental effects on the intrinsic properties of muscles as they relate to the eating quality of beef. *Aust. J. Exp. Agr.* 41:921.
- Page, B.T., Casas, E., Heaton, M.P., Cullen, N.G., Hyndman, D.L., Morris, C.A., Crawford, A.M., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Keele, J.W. and T.P.L. Smith. 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *J. Anim. Sci.* 80:3077.
- Perry D., Shorthose W., Ferguson D. and J. Thompson. 2001. Methods used in the CRC program for the determination of carcass yield and beef quality. *Aust. J. Exp. Agr.* 41:959.
- Price, J.F. y B.S. Schweigert. *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. 1976. Editorial Acribia. Capítulo 1 y 2, p 1.
- Pringle, T.D., Williams, S.E., Lamb, B.S., Johnson, D.D. and R.L. West. 1997. Carcass characteristics, the calpain proteinase system, and aged tenderness of Angus and Brahman crossbred steers. *J. Anim. Sci.* 75:2955.
- Rexroad III, C.E., Bennett, G.L., Stone, R.T., Keele, J.W., Fahrenkrug, S.C., Freking, B.A., Kappes, S.M. and T.P.L. Smith. 2001. Comparative mapping of BTA15 and HSA11 including a region containing a QTL for meat tenderness. *Mammalian Genome* 12:561.
- Robinson, D.L., Ferguson, D.M., Oddy, V.H., Perry, D. and J. Thompson. 2001. Genetic and environmental influences on beef tenderness. *Aust. J. Exp. Agr.* 41:997.
- Rothschild, M. F. and M. Soller. 1997. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. *Probe.* 8:13.
- Schmutz, S.M., Buchanan, F.C., Plante, Y., Winkelman-Sim, D.C., Aalhus, J., Boles, J.A. and J.S. Moker. 2000. Mapping collagenase and a QTL to beef tenderness to cattle chromosome 29. *Plant and Animal genome VIII Conference*. San Diego. CA. www.intl-pag.org/8/abstracts/pag8191.html
- Schmutz, S.M., Buchanan, F.C., Winkelman-Sim, D.C., Pawlyshyn, V., Plante, Y., McKinnon, J.J. and B.P. Fournier. 2001. Development of the Canadian beef reference herd for gene mapping studies. *Theriogenology* 55:963.
- Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Cundiff, L.V., Gregory, K.E., Rohrer, G.A. and J.W. Savell. 1994a. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. *J. Anim. Sci.* 72:857.
- Shackelford, S.D., Koohmaraie, M. and T.L. Wheeler. 1994b. The efficacy of adding a minimum adjusted fat thickness requirement to the USDA beef quality grading standards for select grade beef. *J. Anim. Sci.* 72:1502.
- Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Whipple, G., Wheeler, T.L., Miller, M.F. Crouse, J.D. and J.O. Reagan. 1991. Predictors of beef tenderness: Development and verification. *J. Food Sci.* 55:1130.
- Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. and M. Koohmaraie. 1995. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *J. Anim. Sci.* 73:3333.
- Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. and M. Koohmaraie. 1997. Tenderness classification of beef: I: Evaluation of beef longissimus shear force at 1 or 2 days postmortem as a predictor of aged beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 75:2417.
- Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. and M. Koohmaraie. 1999. Tenderness classification of beef: II. Design and analysis of a system to measure beef longissimus shear force under commercial processing conditions. *J. Animal Sci.* 77:1474.
- Smith, T.P.L., Casas, E., Rexroad III, C.E., Kappes, S.M. and J.W. Keele. 2000. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *J. Anim. Sci.* 78:2589.
- Smith, T.P.L., Grosse, W.M., Freking, B.A., Roberts, A.J., Stone, R.T., Casas, E., Wray, J.E., White, J., Cho, J., Fahrenkrug, S.C., Bennett, G.L., et al. 2001. Sequence evaluation of four pooled-tissue normalized bovine cDNA libraries and construction of a gene index for cattle. *Genome Res.* 11: 626.
- Sorimachi, H., Ishiura, S. and K. Suzuki. 1994 Structure and physiological function of calpains. *Biochem J.* 328:721.
- Suzuki K. and H. Sorimachi. 1998. A novel aspect of calpain activation. *FEBS Letters* 433:1.
- Takahashi, K. 1996. Structural weakening of skeletal muscle tissue during postmortem aging of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.* 43 (Supplement) S67.
- Taylor, R.G., Geesink, G.E., Thompson, V.F., Koohmaraie, M. and D.E. Goll. 1995. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? *J. Anim.Sci.* 73:1351.
- Taylor, S.K. and J.F. Davis. 1997. Genome scans for QTL in cattle. *National Animal Research Program News* 3:1.
- Tornberg, E. 1996. Biophysical aspects of meat tenderness. *Meat Sci.* 43 (Supplement) S175.
- Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P. W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A. et al. 2001. The Sequence of the Human Genome. *Science* 291:1304.
- Warriss, P.D. *Meat Science: An Introductory Text*. 2000. CABI Publishing, New York. Chapter 3 and 5, p 37 and p 93.
- Waterston, R., Lindblad-Toh, K., Birney, E., Rogers, J., Abril, J., Agarwal, P., Agarwala, R., Ainscough, R., Alexandersson, M., An, P., Antonarakis, S. et al. 2002.

- Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome, *Nature* 420:520.
- Wheeler, T.L. and M. Koohmaraie. 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 72:1232.
- Wheeler, T.L., Savell, J.W., Cross, H.R., Lunt, D.K. and S.B. Smith. 1990. Mechanism associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. *J. Anim. Sci.* 68:4206.
- Wheeler, T.L., Shackelford, S.D. and M. Koohmaraie. 2000. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscle. *J. Anim. Sci.* 78:958.
- Wheeler, T.L., Shackelford, S.D. and M. Koohmaraie. 2002. Technical note: Sampling methodology for relating sarcomere length, collagen concentration, and the extent of postmortem proteolysis to beef and pork longissimus tenderness. *J. Anim. Sci.* 80:982.
- Whipple, G.M., Koohmaraie, M., Dikeman, M.E., Crouse, J.D., Hunt, M.C. and R.D. Klemm. 1990. Predicting beef longissimus tenderness from various biochemical and histological muscle traits. *J. Anim. Sci.* 68:4193.
- Woodward, B.W., De Nise, S.K. and J.A. Marchello. 2000. Evaluation of calpastatin activity measures in ante- and postmortem muscle from half-sib bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 78:804.