

# ASPECTOS GENÉTICOS DE LA DOBLE MUSCULATURA EN BOVINOS

Giovambattista, G., M.V. Ripoli, J.P. Lirón, F.N. Dulout y P. Peral García. 2002.  
Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA),  
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.  
[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Genética bovinos de carne](#)

## INTRODUCCIÓN

La “doble musculatura” o hipertrofia muscular ha sido reconocida y seleccionada por los criadores desde hace mucho tiempo. En algunos países los productores han seleccionado a favor de fenotipos extremos, como es el caso de los criadores de la raza “Belgian Blue” (figura 1), mientras que en otros se han buscado fenotipos intermedios.

Dada su importancia productiva, esta característica ha sido estudiada por numerosos investigadores de diferentes países durante los últimos 50 años, habiéndose publicado en ese período más de un centenar de trabajos ([http://www.angis.su.oz.au/Databases/BIRX/omia/omia\\_form.html](http://www.angis.su.oz.au/Databases/BIRX/omia/omia_form.html)).

El fenotipo “doble-musculatura” se debe a un crecimiento anormal del tejido muscular, que es causado enteramente por un aumento del tamaño de las células existentes. Por el contrario, la hiperplasia muscular es consecuencia de un aumento anormal en el tejido muscular por la formación y crecimiento de nuevas células musculares normales. El crecimiento anormal en la hipertrofia muscular bovina produce un aumento de la masa muscular en aproximadamente un 20%, resultando en un mayor rendimiento de carne, un aumento en la proporción de cortes de carne de mayor valor económico, y en una carne magra y tierna.

Los animales con doble-musculatura tienen una carne más magra que los animales normales. Además, este fenotipo se caracteriza por una mayor masa muscular con menos grasa, una reducción en el alimento ingerido y un aumento en conversión alimenticia (Arthur, 1995).

La doble-musculatura se presenta con frecuencias altas en las razas bovinas Piemontese y “Belgian Blue”, siendo característico de estas dos razas. Sin embargo, también ha sido detectado en otras, como por ejemplo Limousine, Charoláis y Asturiana de los Valles.

Junto con las obvias ventajas que presenta la doble-musculatura en cuanto a cantidad y calidad de carne, este fenotipo también tiene algunas desventajas importantes como ser una reducción de la fertilidad en las hembras, una mayor susceptibilidad a enfermedades respiratorias y un aumento significativo en la incidencia de las dificultades en el parto. Debido a la alta incidencia de distocia, las cesáreas son una regla durante los nacimientos de los animales con fenotipos extremos (Hanset, 1991). Sin embargo, sus ventajas son suficientes para que la doble-musculatura haya sido seleccionada para usos específicos en Europa y juegue un rol principal en la agricultura de muchos países.

## ESTUDIOS GENÉTICOS SOBRE LA DOBLE-MUSCULATURA

Diferentes evidencias históricas han permitido concluir que la doble-musculatura o hipertrofia muscular está controlada en los bovinos por un gen mayor, que causaría los mismos eventos fisiológicos en todas las razas que expresan esta condición (Arthur, 1995). El locus que codifica para este carácter ha sido denominado con el símbolo mh.

Los estudios genéticos se enfocaron en la resolución de dos interrogantes: (i) determinar la identidad del gen mayor; (ii) ubicar la posición de este gen en el genoma bovino. El rastreo del genoma a través de marcadores de tipo microsatélites en una retrocruza de Belgian Blue x Friesian, permitió ubicar al gen candidato del locus mh en el extremo centromérico del cromosoma 2 bovino (BTA2) (Charlier et al., 1995; Dunner et al., 1997; Casas et al., 1998).

A mediados de 1997, McPherron y colaboradores publicaron los resultados de sus investigaciones sobre el gen de la miostatina, un factor de crecimiento perteneciente a la familia de los péptidos TGF- $\beta$  (factores de crecimiento beta 1). Estos autores inactivaron mediante la técnica de “knocked out” el gen de la miostatina en ratones de laboratorio, obteniendo animales con un fenotipo similar a la doble musculatura. Esto permitió postular a la miostatina como el gen candidato para mh.

Posteriormente, tanto la construcción de mapas físicos como de ligamiento han puesto de manifiesto que el gen de la miostatina se encuentra en la misma región del locus mh en el cromosoma 2 bovino (Grobet et al., 1997; Smith et al., 1997). Además, estudios de mapeo comparativo pusieron en evidencia que el gen de la miostatina se encuentra en la misma región cromosómica tanto en bovinos como en ratones (McPherron et al., 1997). Estas evidencias y el hecho que esta proteína tiene como función biológica la regulación negativa del crecimiento

muscular avalarían a este gen como un muy buen candidato para ser el mh o el gen mayor responsable del fenotipo de la doble-musculatura.

El paso siguiente consistió en secuenciar la cadena de ADN correspondiente al gen de la miostatina, para lo cual se seleccionaron animales homocigotas con fenotipos normales (+/+) y doble-musculatura (mh/mh). Estos resultados permitieron describir la estructura del gen (figura 2) y revelaron que en la raza "Belgian Blue" todos los bovinos con doble-musculatura presentaban una deleción de 11 pares bases desde el nucleótido 821 hasta 831 en el gen de la miostatina. Como consecuencia de esta mutación se produce un corrimiento en el marco de lectura y la subsiguiente terminación prematura del dominio carboxilo terminal de la proteína (Grobet et al., 1997; Kambadur et al., 1997; McPherron y Lee, 1997) (Tabla 1). Cabe resaltar que esta mutación se localiza en una región activa o funcional de la proteína y que es altamente conservada en la familia de péptidos TGF, a la cual pertenece la miostatina. Posteriormente, se confirmó que la misma mutación es responsable de la doble musculatura en la raza Asturiana de los Valles, Asturianas de las Montañas, Rubia Gallega, Charolais, Normanda entre otras (Grobet et al., 1998; Georges et al., 1998). Por el contrario, en la raza Piemontese este fenotipo se debe a una transición de guanina (G) por adenina (A) que produce un cambio de un residuo de cisteína por uno de tirosina en la misma región altamente conservada del gen (Kambadur et al., 1997; McPherron y Lee, 1997) (Tabla 1).

El análisis de 35 animales con doble musculatura pertenecientes a 10 razas Europeas, permitió detectar siete secuencias diferentes (alelos) para la región codificante del gen de la miostatina (Grobet et al., 1998; Georges et al., 1998). Cinco de ellas causarían una deficiencia en la miostatina, mientras que las dos restantes no tienen efecto fenotípico en los animales portadores (Tabla 1). Además de las dos mutaciones anteriormente mencionadas se encontraron: (i) una inserción/deleción en donde 10 bases no relacionadas son insertadas en el lugar de 7 bases que han sido delecionadas; (ii) una transición de citocina (C) por timina (T) en la posición 610; (iii) una transversión de G por T en el nucleótido 676; (iv) una transversión de C por A en el nucleótido 282; (v) una transición de C por T en el nucleótido 414.

Posteriormente, Miranda y colaboradores trabajando con 670 muestras de animales pertenecientes a 23 razas bovinas españolas, francesas, belga y británicas detectaron 7 nuevas mutaciones en el gen de la miostatina (2 polimorfismos intrónicos, 3 mutaciones silenciosas y 2 mutaciones conservadas en los exones 1 y 2, ningunas de las cuales tendrían alteraría la funcionalidad de la proteína.

Como se puede observar hay una considerable heterogeneidad genética en la causa de la doble musculatura. Además, no todas las mutaciones son privativas de una raza en particular, ya que muchas de ellas se detectaron en más de una raza bovina.

### **MODO DE HERENCIA:**

La doble musculatura o hipertrofia muscular tiene una herencia mendeliana de tipo autosómica recesiva, y estaría controlada por el gen mayor GDF8 o miostatina. En la tabla 2 se detallan las proporciones de crías esperadas para todos los posibles cruzamientos entre los diferentes genotipos de vaca-toro. En la mayoría de las razas que presentan este fenotipo, los animales con doble-musculatura son homocigotas para alguna de las 5 mutaciones con efecto fenotípico (Tabla 1), o son heterocigotas para 2 de estas mutaciones. Sin embargo, la variabilidad observada en la expresión de este carácter sugeriría que la acción de dicho gen no es totalmente suficiente para explicar el fenotipo de doble-musculatura.

Estudios realizados en las razas Limousine y Blonde D'Aquitaine no demostraron que el fenotipo doble-musculatura observado estuviera asociado a mutaciones con pérdida de funcionalidad de la proteína en estas razas (Grobet et al., 1998). Por otra parte, animales de la raza "South Devon" homocigotas para la pérdida de función del locus mh no evidenciaban doble-musculatura (Smith et al., 2000).

Estos resultados podrían ser explicados por la presencia de otros loci en la determinación de la doble musculatura. En este sentido, Casas y colaboradores (2000) identificaron otra región cromosómica ligada al locus mh que afecta tanto el crecimiento como la composición y por lo tanto segregan en forma conjunta.

Los intensivos procesos de selección, en razas como la "Belgian Blue" habrían tenido como consecuencia un significativo desequilibrio de ligamiento entre los alelos de la miostatina y los correspondientes a otros genes que también controlan caracteres de conformación y de musculatura.

Si bien los animales heterocigotas para la doble-musculatura (mh/+) presentan un mayor rendimiento (mayor proporción de masa muscular y carne más magra) en comparación con los animales normales (+/+), no evidencian problemas de fertilidad ni dificultad de parto como los animales homocigotas (mh/mh). Las crías son un poco mas pesadas pero tienen una facilidad de parto similar a las de los animales normales (Arthur, 1995; Casas et al., 1997).

## MÉTODOS DE TIPIFICACIÓN DEL GENOTIPO DEL GEN DE LA MIOSTATINA

El conocimiento de la secuencia de ADN correspondiente al gen de la miostatina y la detección de las mutaciones que producen la inactivación de esta proteína ha permitido el desarrollo de métodos rápidos y sencillos de tipificación de los animales. Estos marcadores genéticos se basan en el estudio de microsatélites ligados al gen de miostatina o al análisis directo de las variaciones presentes en la secuencia de ADN de dicho gen. Es por esta razón que dichas tecnologías permiten diferenciar a aquellos animales con una (heterocigotas) o con dos copias (homocigotas) del gen inactivo y por lo tanto se pueden diseñar en forma más eficiente los cruzamientos sin depender exclusivamente de los datos fenotípicos que son en muchos casos subjetivos y difíciles de obtener.

En la figura 2 se esquematizan tres técnicas desarrolladas para tipificar el genotipo de miostatina. El primero de estos métodos se basa en el principio de desequilibrio de ligamiento entre microsatélites del cromosoma 2 (por ejemplo, el TGLA44) y el gen de la doble musculatura. Un determinado alelo del microsatélite se hereda en bloque con el alelo normal de la miostatina, mientras que otro se transmite en forma conjunta con el alelo mh. El inconveniente de esta metodología consiste en que al ser una determinación indirecta, la asociación de los alelos del microsatélite con el alelo de miostatina puede ser propia de cada raza o incluso de un determinado grupo familiar.

Los otros métodos se basan en la amplificación directa del fragmento portador de las mutaciones presentes en el gen (Fahrenkrug et al., 1997). Uno de ellos consiste en la utilización de cebadores específicos para los alelos que se originan por la presencia de mutaciones en el sitio 938 (mutación presente en la raza Piemontese), por lo que el resultado se observa como presencia o ausencia de bandas (figura 2). Otro de estos métodos consiste en la amplificación de un fragmento que incluye la deleción comprendida entre las bases 821 y 831 (característico de la raza "Belgian blue"). En este caso los resultados se ven como fragmentos de tamaños diferentes según presente o no la deleción (figura 2).

### PERSPECTIVAS FUTURAS: IMPLICANCIAS DEL USO DE SISTEMAS DE TIPIFICACIÓN

En el futuro será de gran importancia determinar la combinación de alelos de los diferentes genes participantes, identificar a los genes modificadores y evaluar la importancia relativa de la miostatina para comprender el control genético del crecimiento del músculo y de la composición de la carcasa en los bovinos.

Como se mencionó anteriormente, los animales heterocigotas (mh/+) presentarían ventajas productivas sobre ambos tipos de animales homocigotas (mh/mh, +/+). Es por esta razón que los sistemas de producción que utilicen vacas que produzcan terneros con una única copia funcional de la miostatina podrían beneficiarse con un mayor peso al destete, un aumento del rendimiento de carne magra en comparación con los animales normales, evitando los problemas de parición observados en los animales homocigotas mh/mh. La detección temprana de la mutación que causa la doble musculatura en el gen de la miostatina en la raza Piemontese u otras permitiría la identificación de los animales heterocigotas en etapas tempranas de su vida. De esta manera el productor podría seleccionar fehacientemente los animales deseados para los programas de cruce y lograr importantes beneficios económicos.

Tabla 2. Descripción de las mutaciones reportadas para el gen de la miostatina bovina.

Mutaciones con efecto fenotipo: Doble musculatura		
Descripción	Tipo de mutación	Raza
inserción/deleción en la posición 418	Corrimiento en el marco de lectura	Belgian blue, Asturianas, Rubia Gallega, Aubrac
transición C → T en la posición 610	Sin sentido - terminación prematura de la proteína	Charoláis
transversión G → T en la posición 676	Sin sentido - terminación prematura de la proteína	Maine-Anjou, Parthenais
Deleción de 11 pb desde la posición 821 hasta la 831	Corrimiento en el marco de lectura - terminación prematura de la proteína	Belgian blue, Limousine, South Devon, Asturiana de los Valles
transición G → A en la posición 938	Transversión consentido. Cys → Tyr en la proteína	Piemontese, Gascon
Mutaciones sin efecto fenotipo: Normales		
transversión C → A en la posición 282	Mutación consentido. Phe → Leu en la proteína	Limousine, Aubrac, Devon, Pirenaica
transición C → T en la posición 414	Transición silente - sin cambio en la proteína	Ampliamente distribuida

Tabla 2. Proporción de genotipos esperados en las crías para cada una de las posibles combinaciones de genotipos vaca-toro para el locus de la miostatina.

Genotipo de la Vaca	Genotipo del Toro	Genotipos de las Cría		
		mh / mh	mh / +	+ / +
+ / +	+ / +	0	0	1
	mh / +	0	1/2	1/2
	mh / mh	0	1	0
mh / +	+ / +	0	1/2	1/2
	mh / +	1/4	2/4	1/4
	mh / mh	1/2	1/2	0
mh / mh	+ / +	0	1	0
	mh / +	1/2	1/2	0
	mh / mh	1	0	0

## REFERENCIAS

- Antoniou, E., Grosz, M. (1999). PCR based detection of bovine myostatin Q204X mutation. *Animal Genetics* 30: 231-232.
- Arthur, P.F. (1995). Double muscling in cattle - a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 46: 1493-1515.
- Smith, J.A., Lewis, A.M., Wiener, P., Williams, J.L. (2000). Genetic variation in the bovine myostatin gene in UK beef cattle: Allele frequencies and haplotype analysis in the South Devon. *Animal Genetics* 31: 306-309.
- Casas, E., Keele, J.W., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Sonstegard, T.S., Smith, T.P.L., Kappes, S.M., Stone, R.T. (1998). Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. *Journal of Animal Science* 76: 468-473.
- Charlier, C., Coppeters, W., Farnir, F., Grobet, L., Leroy, P.L., Michaux, C., Mni, M., Schwerts, A., Vanmanshoven, P., Hanset, R., Georges, M. (1995). The MH gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mammalian Genome* 6: 788-792.
- Dunner, S., Charlier, C., Farnir, F., Brouwers, B., Canon, J., Georges, M. (1997). Towards interbreed IBD fine mapping of the MH locus - double-muscling in the Asturiana de los Valles breed involves the same locus as in the Belgian Blue cattle breed. *Mammalian Genome* 8: 430-435.
- Fahrenkrug, S. C. Casas, J.W. Keele y T.P.L. Smith. (1999). Technical note: Direct genotyping of the double-muscling locus (mh) in Piedmontese and Belgian Blue cattle by fluorescent PCR. *Journal of Animal Sciences* 77:XX-XX.
- Georges, M., Grobet, L., Poncelet, D., Royo, L.J., Pirottin, D., Brouwers, B. (1998). Positional candidate cloning of the bovine mh locus identifies an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 26: 195-204.
- Grobet, L., Martin, L.J.R., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J., Schoeberlein, A., Dunner, S., Menissier, F., Massabanda, J., Fries, R., Hanset, R., Georges, M. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nature Genetics* 17: 71-74.
- Grobet, L., Poncelet, D., Royo, L.J., Brouwers, B., Pirottin, D., Michaux, C., Menissier, F., Zanotti, M., Dunner, S., Georges, M. (1998). Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mammalian Genome* 9: 210-213.
- Hanset, R. (1991). The Major Gene of Muscular Hypertrophy in the Belgian Blue Cattle Breed. In *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*, (ed. Owen, J.B.; Axford, R.F.E.), pp. 467-478. CAB International, Wallingford Oxon OX10 8DE United Kingdom.
- Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T.P.L., Bass, J.J. (1997). Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Research* 7: 910-916.
- McPherron, A.C., Lawler, A.M., Lee, S.-J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387: 83-90.
- Miranda ME.; Cañón J.; Méniissier F.; Hanset R.; Williams J.; Dunner S. Identificación de los distintos haplotipos del gen de la miostatina en razas bovina europeas.
- Smith, T.P.L., Lopezcorrales, N.L., Kappes, S.M., Sonstegard, T.S. (1997). Myostatin maps to the interval containing the bovine mh locus. *Mammalian Genome* 8: 742-744.
- Smith, J.A., Lewis, A.M., Wiener, P., Williams, J.L. (2000). Genetic variation in the bovine myostatin gene in UK beef cattle: Allele frequencies and haplotype analysis in the South Devon. *Animal Genetics* 31: 306-309.

[Volver a: Genética bovinos de carne](#)