



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 298 525**

⑤1 Int. Cl.:
C12Q 1/68 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧6 Número de solicitud europea: **03732887 .9**

⑧6 Fecha de presentación : **21.05.2003**

⑧7 Número de publicación de la solicitud: **1506316**

⑧7 Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2005**

⑤4 Título: **Método para mejorar la eficacia en la producción de ganado.**

③0 Prioridad: **21.05.2002 CA 2387003**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2008

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2008

⑦3 Titular/es: **Foley Leigh Shaw Marquess**
Box 73 Gem
Alberta, Toronto TOJ 1MO, CA

⑦2 Inventor/es: **Marquess, Foley Leigh Shaw**

⑦4 Agente: **Urizar Anasagasti, Jesús María**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para mejorar la eficacia en la producción de ganado.

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad con respecto a la solicitud canadiense número 2.387.003, titulada: "Método para mejorar la eficacia en la producción de ganado", presentada el 21 de mayo de 2002.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método de gestión de animales de ganado según sus genotipos y, más específicamente, se refiere a un método de gestión de ganado en grupos que tienen de manera predecible una acumulación de grasas más uniforme que la posible actualmente.

15 Antecedentes de la invención

La leptina y el gen ob: La leptina, un polipéptido específico de adipocitos de 16 kDa se expresa predominantemente en los tejidos adiposos de aquellos animales en los que se ha detectado, animales que incluyen especies de ganado tales como reses vacunas, cerdos y ovejas. La leptina se codifica por el gen *ob* (obeso) y parece estar implicada en la regulación del apetito, el metabolismo basal y la acumulación de grasa. El aumento en las concentraciones en plasma de leptina en ratones, reses vacunas, cerdos y ovejas se ha asociado con la disminución en la acumulación de grasa corporal y el apetito, y el aumento en los niveles de metabolismo basal (Blache *et al.*, 2000; Delavaud *et al.*, 2000; Ehrhardt *et al.*, 2000). También se ha encontrado que características fenotípicas similares están asociadas con los niveles de ARNm de la leptina en el tejido adiposo (Ramsay *et al.*, 1998; Robert *et al.*, 1998). De acuerdo con estas observaciones, se ha demostrado que la administración de leptina exógena reduce drásticamente la ingestión de alimentos y la masa corporal de ratones, pollos, cerdos y ovejas (Barb *et al.*, 1998; Halaas *et al.*, 1995; Henry *et al.*, 1999; y Raver *et al.*, 1998).

El gen *ob* que se ha mapeado en el cromosoma 6 en ratones (Friedman y Leibel, 1992), cromosoma 7q31.3 en seres humanos (Isse *et al.*, 1995), cromosoma 4 en reses vacunas (Stone *et al.* 1996) y cromosoma 18 en ganado porcino (Neuenschwander *et al.*, 1996; Saskai *et al.*, 1996). Se han determinado secuencias para dicho gen a partir de ratones (Zhang *et al.*, 1994), reses vacunas (patente estadounidense número 6.297.027 concedida a Spurlock), cerdos (patente estadounidense número 6.277.592 concedida a Bidwell y Spurlock; Neuenschwander *et al.*, 1996), y seres humanos (patente estadounidense número 6.309.857 concedida a Friedman *et al.*) y hay una conservación significativa entre las secuencias de los ADN *ob* y los polipéptidos de leptina a partir de esas especies (Bidwell *et al.* 1997; Ramsay *et al.* 1998).

Las mutaciones en las secuencias codificantes del gen *ob* que provocan alteraciones en la secuencia de aminoácidos del polipéptido de leptina se han asociado con la hiperfagia, la actividad hipometabólica y la acumulación excesiva de grasa; es decir, un fenotipo caracterizado por un tamaño corporal mayor; un fenotipo gordo (Zhang *et al.*, 1994).

Genotipos del gen *ob*: Fitzsimmons *et al.*, (1998) notificaron pruebas de tres alelos de un marcador de microsatélite situado proximal con respecto al gen *ob* en reses vacunas que aparecían con frecuencia significativa en toros de varias razas (Angus, Charolais, Hereford y Simmental) y que comprenden 138, 147 y 149 pares de bases (pb). Los alelos de 138 pb y 147 pb, respectivamente, aparecían con la mayor frecuencia. Además, se determinó que la aparición del alelo de 138 pb estaba asociada positivamente con ciertas características de la canal; aumento en la acumulación de grasa promedio, aumento en la acumulación de grasa media, aumento en el porcentaje de grasa de las costillas, y disminución del porcentaje de magro de las costillas. Por tanto, los toros homocigóticos para el alelo de 138 pb mostraron una mayor acumulación de grasa promedio que los animales heterocigóticos y tales animales heterocigóticos mostraron una mayor acumulación de grasa promedio que los toros homocigóticos para el alelo de 147 pb.

Posteriormente, Buchanan *et al.* (2002) identificaron una transición de citosina (C) a timina (T) dentro de un exón (exón 2) del gen *ob*, que correspondía a una sustitución de una arginina (ARG) por cisteína (CYS) en el polipéptido de leptina. La presencia del alelo que contenía T en toros estaba asociada con canales más grasos que las de toros con el alelo que contenía C.

También se han detectado polimorfismos de un solo nucleótido en el gen *ob* porcino y se ha encontrado que algunos de estos polimorfismos están asociados con la ingesta de alimentos y rasgos de la canal (Kennes *et al.* 2001; Kulig *et al.* 2001).

Determinación del genotipo del gen *ob*: En la patente estadounidense número 6.297.027 concedida a Spurlock hay medios de amplificación selectiva del gen bovino. Es posible distinguir los genotipos *ob* clonando y secuenciando fragmentos de ADN de animales individuales, o mediante otros métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, es posible distinguir los genotipos *ob* empleando amplificación cebada con oligonucleótidos sintéticos de fragmentos del gen *ob* seguida por digestión con endonucleasas de restricción del producto amplificado usando una enzima de restricción que corta tal producto de alelos *ob* diferentes en fragmentos de producto diferenciados de diferente longitud. Tales fragmentos de producto diferenciados podían distinguirse entonces usando electroforesis en agarosa o acrilamida, por

ejemplo. Los alelos *ob* identificados por Buchanan *et al.* (2002) se distinguieron mediante tales medios usando una estrategia de PCR-RFLP de apareamiento erróneo en la que, el alelo que contenía C (tal como anteriormente) produce fragmentos de ADN de 75 y 19 pb tras la digestión del amplímero con Kpn 2I, y el alelo que contenía T (tal como anteriormente) no se corta.

5

El desarrollo del estado corporal deseado en animales de ganado.

El estado corporal es un factor determinante de la disponibilidad para el mercado en operaciones comerciales de alimentación de ganado y acabado. El término estado corporal se usa en la industria ganadera en referencia al estado de desarrollo de un animal de ganado que es una función del tipo de constitución o del tamaño, y la cantidad de grasa intramuscular y grasa dorsal mostrada por un animal. Normalmente se determina subjetivamente y mediante la evaluación visual experimentada de animales vivos. La acumulación de grasa, o la cantidad de grasa intramuscular y grasa dorsal en la canal de un animal, es importante para los participantes en la industria porque las canales que muestran las cantidades y proporciones deseadas de tales grasas pueden venderse a menudo por precios mayores que las canales que muestran divergencias con respecto a tales cantidades y proporciones deseadas. Además, la acumulación deseada de grasa en la canal varía a menudo entre diferentes mercados y compradores, y también varía a menudo en el tiempo en un solo mercado y entre compradores particulares en respuesta a las tendencias en la demanda del público con respecto al deseo de grasa y vetas de grasa en la carne. El aumento de peso de un animal de ganado durante su crecimiento y desarrollo sigue normalmente un patrón trifásico que se gestiona con cuidado por los productores comerciales y las empresas de acabado. La eficacia de la conversión calórica (del alimento) de la dieta en aumento de peso durante un incremento de tiempo varía durante las tres fases de crecimiento; una primera fase de crecimiento comprende la etapa de la vida de un animal de ganado desde el nacimiento hasta el destete, y las empresas de alimentación y acabado comerciales no le prestan mucha atención.

Una segunda fase de crecimiento comprende la etapa de la vida de un animal de ganado desde el destete hasta la consecución de la madurez musculoesquelética. La eficacia de conversión del alimento es baja durante esta fase; los productores de ganado normalmente restringen la ingesta calórica, lo que tiene el efecto de provocar que esta fase se prolongue pero también da normalmente como resultado animales con una constitución mayor, lo cual es el objetivo de la gestión dietética durante esta fase. Durante la segunda fase de crecimiento el aumento de peso está asociado principalmente con la acumulación de masa esquelética y de masa muscular.

Durante una tercera fase de crecimiento, después de que un animal haya conseguido la madurez musculoesquelética, la eficacia de la conversión del alimento se reduce, de modo que se requiere más alimento para aumentar el peso de un animal. Por ejemplo con reses vacunas, durante la segunda fase de crecimiento, un novillo típico podría convertir de 5 a 6 libras de alimento en una libra de aumento de peso. Tras entrar en la tercera fase, la eficacia de conversión del alimento normalmente disminuye, de modo que se requieren desde 7 hasta 10 o más libras de alimento para producir una libra de peso. Durante la tercera fase, los cebadores de ganado aumentan significativamente el contenido calórico de las raciones de los animales. Durante la tercera fase de crecimiento, el aumento de peso está asociado principalmente con la acumulación de grasa. De nuevo usando las reses vacunas como ejemplo, con un novillo que pesa 900 libras al final de la segunda fase, de esas 900 libras, normalmente 350 libras serán de carne roja. Al final de la tercera fase, el novillo pesará normalmente 1400 libras y normalmente 430 libras serán de carne roja.

Manteniendo la industria de las reses vacunas como ejemplo, inicialmente una empresa de vacas/terneros cruzará toros con vacas, producirá terneros de las vacas y permitirá que los terneros se alimenten de la leche de su madre hasta su destete algunos meses tras el nacimiento. Esta es la primera fase de crecimiento del ternero. Tras el destete, el ternero entra en la segunda fase de crecimiento en la que se alimenta para que crezca hasta su tamaño esquelético completo. Esto se denomina comúnmente la fase de "retención" durante la cual se consigue la madurez musculoesquelética.

Cuando el animal ha conseguido su tamaño completo, entra en la tercera fase de crecimiento en la que el animal completamente desarrollado gana peso. Normalmente, es al inicio de la tercera fase de crecimiento cuando el animal entra en un engorde intensivo de acabado. En el engorde intensivo el objeto es alimentar el animal con la ración apropiada de modo que obtenga de la manera más rápida las características de mercado apropiadas que se desean en ese momento dado. Actualmente, por ejemplo, es deseable tener carne de ternera muy veteada, es decir que tenga grasa intramuscular considerable en la carne. En otras ocasiones puede ser deseable tener carne magra con muy poca grasa intramuscular. El precio que el propietario de la empresa de engorde intensivo obtiene por sus reses vacunas cuando vende a la empresa de productos cárnicos puede variar significativamente dependiendo del veteado de la carne.

Actualmente, las reses vacunas que entran en un engorde intensivo se dividen en grupos según la edad estimada, contextura, raza, peso, etc. Al hacer esto el propietario de la empresa de engorde intensivo está intentando agrupar las reses vacunas de modo que el grupo pueda encerrarse junto y alimentarse con raciones iguales y esté listo para el mercado al mismo tiempo. El peso y las informaciones visuales son solamente medios posibles para clasificar las reses vacunas para el agrupado de engorde intensivo.

Una vez que la empresa de engorde intensivo ha vendido las reses vacunas a la empresa de productos cárnicos, se sacrifican y se cuelgan las canales en un riel en el que pueden clasificarse según la cantidad de grasa medida en ciertos puntos definidos y normalizados de la canal. Se acepta que esta medida de grasa se correlaciona con la cantidad de grasa intramuscular en la canal. Una canal con una medida de grasa igual o superior a cierta medida convencional se

clasificará como AAA en Canadá, lo que corresponde a Choice Grade (*grado de elección*) en los Estados Unidos. Una canal con una medida de grasa inferior a la establecida para la calidad AAA, pero superior a la norma establecida para la calidad AA, será de calidad AA, mientras que aquéllas con medidas de grasa inferiores a la norma establecida para AA se clasificarán de manera correspondiente inferior mediante la gama de calidades.

El grado más deseable en el presente mercado es AAA, porque la grasa se equipara con la palatabilidad, confiriendo jugosidad y suavidad a la carne, y está siendo demandado actualmente por los consumidores. Actualmente se pagan precios adicionales significativos para canales de calidad AAA. Por el contrario, históricamente se han visto precios adicionales para la ternera más magra. Entonces, en cualquier momento dado, el consumidor indicará su preferencia en el punto de venta, y esto devolverá señales por la cadena a la empresa de productos cárnicos, a los cebaderos y a las empresas de cría de vacas/terneros para marcarse como objetivo más o menos grasa.

Convencionalmente, la cadena ha reaccionado a estas señales cambiando las razas. Hablando en general, las razas europeas tales como Charolais y Limousin tienen constituciones mayores y carne más magra que las razas británicas tales como Hereford y Angus. Cuando se demande ternera magra, la empresa de engorde intensivo pagará precios adicionales por reses vacunas que porten rasgos de las razas europeas, y cuando se demande ternera grasa, se pagarán precios adicionales por reses vacunas que porten rasgos de las razas británicas.

Otro factor principal en el precio que aplicará la empresa de engorde intensivo es el grado de rendimiento, que es el porcentaje de carne útil que se deriva de una canal. El grado de rendimiento se establece por una medida de grasa máxima, pero es un grado que es independiente del grado de palatabilidad. Aunque puede conseguirse la medida de grasa mínima para la calidad AAA, superar esta medida puede provocar una reducción en el grado de rendimiento y, por tanto, una reducción en el precio. Para cada grado de rendimiento hay una medida de grasa máxima, de modo que superar una medida de grasa máxima para el rendimiento de grado 1 baja la canal hasta un rendimiento de grado 2, y superar una medida de grasa máxima para el rendimiento de grado 2 baja la canal hasta un rendimiento de grado 3, etc. Esencialmente el grado de rendimiento representa el exceso de grasa en la canal que debe quitarse antes de la venta, y es por tanto desperdicio.

Por tanto para aplicar el precio máximo para una canal en un mercado como el actual en el que se demanda la calidad AAA, la empresa de engorde intensivo debe cumplir con la medida de grasa mínima para la calidad AAA, y además no superar la medida de grasa máxima para el rendimiento de grado 1. Los presentes métodos usados para conseguir este objetivo comprenden agrupar visualmente las reses vacunas según el tipo de constitución, la edad estimada y el peso estimado en el momento en el que las reses vacunas entran en el engorde intensivo. Los animales de un grupo particular se alimentan y por lo demás se mantienen de una manera sustancialmente uniforme hasta que se estima, de nuevo basándose en una inspección visual experimentada, que el estado corporal medio de los animales en el grupo es tal que la medida de grasa superará el mínimo requerido para la calidad AAA, siendo además inferior al máximo permitido para el rendimiento de grado 1.

Además de la palatabilidad y los grados de rendimiento, otros factores también influyen en el precio recibido por una canal. Por ejemplo el peso de la canal debe estar en una gama deseada que proporciona el tamaño más popular de cortes de carne.

Independientemente de la preferencia del mercado particular en cualquier momento dado, la empresa de engorde intensivo intentará adaptar sus reses vacunas para que cumplan alguna norma similar que provoque que una empresa de productos cárnicos o comprador comercial similar pague el precio más alto según las preferencias del mercado actualmente predominantes.

Invariablemente algunas canales de los animales en un grupo estarán en la gama deseada, mientras que muchos están fuera de la gama deseada. Por tanto algunas de estas canales proporcionarán el precio máximo porque están en la gama deseada, pero muchas proporcionarán un precio reducido porque están fuera de la gama deseada. La reducción en el precio aumenta generalmente de forma escalonada según aumenta la variación con respecto a la gama deseada.

Los costes de la empresa de engorde intensivo incluyen los costes de llevar a cabo el engorde intensivo, tales como mano de obra, capital, mantenimiento, etc., más el coste de alimentar las reses vacunas. Mientras que el coste de adquisición de cada animal en un grupo puede variar algo, los costes de la empresa de engorde intensivo son los mismos para cada animal en el grupo ya que se alimentan con la misma cantidad de alimento y ocupan espacio en el engorde intensivo durante el mismo periodo de tiempo. Por tanto las reducciones en el precio para canales que están fuera de la gama deseable afectan directamente al balance final de la empresa de engorde intensivo, reduciendo los beneficios.

La empresa de engorde intensivo tiene que considerar un conjunto de factores muy complejo cuando toma decisiones con respecto a la alimentación y comercialización de reses vacunas. Cuanto más tiempo esté el animal en engorde intensivo antes de la venta, más le habrá costado a la empresa de engorde intensivo. En algunos momentos, mantener los animales más tiempo puede ser una opción atractiva si de este modo puede conseguirse una calidad más rentable. Por ejemplo, cuando se demanda grasa corporal, la empresa de engorde intensivo puede mantener los animales más tiempo para engordarlos más con el fin de que más reses vacunas alcancen la calidad AAA. Esto es especialmente cierto cuando las deducciones en el grado de rendimiento por grasa en exceso son menores que los precios adicionales

por grasa suficiente, e incluso aún más en momentos en los que no hay disponibles animales suficientes para introducir en el engorde intensivo, o cuando el precio de los mismos es elevado. La variabilidad en la propensión de las reses vacunas a acumular grasa reduce significativamente la eficacia y la rentabilidad de los engordes intensivos.

5 Actualmente las empresas de productos cárnicos predicen la calidad de la canal de los animales que compran basándose en informaciones visuales y en la experiencia. Las empresas de productos cárnicos reciben pedidos de cantidades surtidas de AAA y otras calidades de carne de ternera que deben cubrir con las reses vacunas que compran de las empresas de engorde intensivo. La mezcla de calidades de estos animales puede variar considerablemente y por tanto la empresa de productos cárnicos se enfrenta a una dificultad considerable a la hora de predecir cuál será su suministro de las diversas calidades de las canales en un momento dado. A menudo se requiere que la empresa de productos cárnicos salga y compre con poca antelación más reses vacunas para cubrir un pedido para una calidad particular, basando de nuevo su decisión sobre qué reses vacunas comprar en informaciones visuales tales como qué calidad tendrá la canal cuando cuelgue finalmente del rail en su planta.

15 Tras sacrificar las reses vacunas, las canales se introducen en una cámara de refrigeración en la que cuelgan durante 20 o más horas antes de la clasificación para permitir que se tome una medida de grasa apropiada. Una vez clasificadas, las canales se dejan colgando durante normalmente 14-21 días. Por tanto, en cualquier momento dado, la cámara de refrigeración contiene un número considerable de canales no clasificadas. A medida que las canales se clasifican, la empresa de productos cárnicos debe evaluar de manera continua sus existencias con respecto a sus pedidos, y entonces comprar reses vacunas de manera apropiada. Dependiendo de las existencias y de los pedidos, una empresa de productos cárnicos estará normalmente buscando comprar reses vacunas más grasas o más magras. Un excedente de una o de otra requerirá normalmente una reducción en el precio con el fin de sacar el excedente de la cámara de refrigeración en función de un criterio oportuno. Tales reducciones en el precio reducen los beneficios de la empresa de productos cárnicos. Un aumento en la precisión a la hora de predecir la calidad de la canal de reses vacunas adquiridas reducirá la aparición de excedentes, y aumentará el beneficio de la empresa de productos cárnicos.

Tal como se discutió anteriormente, las empresas de vacas/terneros cruzan toros con vacas, eligiendo el apareamiento basándose en las señales recibidas a través de la cadena de suministro de los consumidores para aquellos rasgos que se demandan, por ejemplo ternera grasa o ternera magra. Las razas europeas proporcionan canales que son normalmente más magras que las razas británicas, por lo tanto la empresa de vacas/terneros tenderá normalmente a una u otra según cambie la demanda. También seleccionan animales de cría basándose en rasgos visuales, tales como contextura, y rasgos anecdóticos, tales como un historial de facilidad de parto. De nuevo, el objeto es proporcionar reses vacunas que impongan el precio más alto al comprador eventual, tal como una empresa de retención o de engorde intensivo.

35 Sumario de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar un método para mejorar la eficacia en la producción de ganado. En una realización de la presente invención un método de este tipo comprende agrupar animales de ganado, tales como reses vacunas y cerdos, durante el periodo de su retención en una instalación de alimentación según el genotipo de los animales de ganado individuales para acumular grasa, y entonces alimentar los animales en cada grupo sustancialmente de manera uniforme.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un método que comprende satisfacer las expectativas de adquisición de grasa corporal particulares. En una realización, la homocigocidad o heterocigocidad de cada animal se determina con respecto a los alelos de un gen que codifica para un polipéptido específico de adipocitos, denominado leptina, gen que se denominará en lo sucesivo en el presente documento como *ob*, y segregando tales animales en grupos basándose en el genotipo, por ejemplo el genotipo *ob*, y opcionalmente el fenotipo. En una realización, los animales se segregan por el fenotipo, por ejemplo el tipo de constitución, y el genotipo, por ejemplo la homocigocidad con respecto a un primer alelo *ob*, homocigocidad con respecto a un segundo alelo *ob*, o heterocigocidad con respecto a los primer y segundo alelos *ob*. La alimentación y mantener por lo demás los animales en un grupo juntos y separados de otros grupos de animales, y dejar de alimentar los animales en el grupo en un momento se continúa hasta que el estado de grasa corporal media de los animales de ese grupo es de un estado de grasa corporal deseado.

55 Todavía en otra realización, la presente invención proporciona un método de gestión de reses vacunas que entran en un engorde intensivo, determinando la homocigocidad o heterocigocidad de los animales con respecto a los alelos del gen *ob*, y clasificando las reses vacunas en consecuencia en tres grupos, un grupo homocigótico con respecto a un primer alelo *ob* y que tiene por tanto la mayor propensión a acumular grasa, un segundo grupo homocigótico con respecto a un segundo alelo *ob* y que tiene por tanto la menor proporción a acumular grasa, y un tercer grupo heterocigótico con respecto a los primer y segundo alelos *ob* y que tiene por tanto una propensión intermedia a acumular grasa. Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un método de este tipo en el que los tres grupos se dividen adicionalmente según el peso o la contextura.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un método que comprende, para los grupos de animales que tienen la menor predisposición genética para producir grasa, alimentar para conseguir una canal del animal que tenga una grasa corporal media baja.

Una realización adicional de la presente invención proporciona un método para las empresas de productos cárnicos para aumentar la predictibilidad de la acumulación de grasa en los grupos de ganado adquiridos. En particular, esta

realización permite a las empresas de vacas/terneros responder a las señales del mercado del engorde intensivo de manera más precisa produciendo animales que tienen una mayor o menor predisposición genética a almacenar grasa.

En el método de la presente invención, los animales individuales, entre los conjuntos de animales recibidos en las instalaciones de alimentación, se segregan en grupos basándose de manera convencional en el peso y el tipo de constitución, y basándose adicionalmente en el genotipo ob. Preferiblemente y de la manera más eficaz se someten a prueba los animales para determinar la homocigocidad o heterocigocidad con respecto a los alelos del gen *ob* cuando éstos se reciben en la instalación receptora, y se agrupan en consecuencia con poca interrupción en el flujo normal de animales a lo largo de la instalación. Los animales de tales grupos mostrarán, cuando se mantienen juntos con una dieta uniforme, una uniformidad superior del estado de grasa corporal en cualquier momento particular después de tal segregación a la que se muestra entre los animales agrupados juntos usando las prácticas actuales.

Los animales individuales dentro de un grupo de este tipo alcanzarán un estado corporal deseado más cerca del tiempo en que los otros animales individuales del mismo grupo alcanzan el estado corporal deseado. Tal uniformidad temporal supera la mostrada en los grupos de animales situados por lo demás de manera similar mantenidos y alimentados juntos usando las prácticas actuales de agrupación.

Será ventajoso alimentar las reses vacunas para conseguir un grado de grasa alto cuando éstas están lo más genéticamente dispuestas a almacenar grasa (en lo sucesivo en el presente documento reses vacunas TT, es decir, reses vacunas homocigóticas para el SNP T). Para aquellas reses vacunas con una predisposición genética menor a almacenar grasa (en lo sucesivo en el presente documento reses vacunas CC, es decir, homocigóticas para el SNP C), será ventajoso alimentar estas reses vacunas de modo que se consiga un grado de grasa inferior, o un grado magro, en lugar de alimentarlas durante más tiempo para conseguir el grado de grasa alto. Aquellas reses vacunas con una predisposición genética intermedia a almacenar grasa, (en lo sucesivo en el presente documento reses vacunas CT, es decir heterocigóticas para el SNP), pueden alimentarse durante más tiempo para conseguir un grado de grasa alto, o durante menos tiempo para conseguir un grado magro, dependiendo de consideraciones tales como los precios del mercado, tendencias de los precios, costes de alimentación, disponibilidad de reses vacunas de cebadero adicionales para introducir en el engorde intensivo, y otras consideraciones externas similares. En alguna ocasión tales consideraciones externas pueden establecer que las reses vacunas CC deban alimentarse para un grado de grasa, sin embargo, esto será con la mayor frecuencia tan ineficaz que tal alimentación no será rentable.

Una ventaja adicional de alimentar reses vacunas CC para un grado magro se realizaría por la empresa de productos cárnicos que compra las reses vacunas. Las empresas de productos cárnicos reciben pedidos de carne de ternera magra y carne de ternera grasa. Actualmente, las empresas de productos cárnicos que se enfrentan a un pedido de carne de ternera AAA se ven forzadas con mucha frecuencia a comprar considerablemente más reses vacunas de las que necesitan en realidad con el fin de garantizar que tienen suficientes canales AAA con alto contenido en grasa para cumplir con el pedido. Por tanto tienen un exceso de carne de ternera de calidad AA o A magra que venden a precios reducidos. Si una empresa de productos cárnicos confiara en que comprando un cierto número de reses vacunas TT listas para el mercado, obtendría un 55% - 65% de calidad AAA, entonces cubriría el pedido de calidad AAA con menos reses vacunas, y cubriría apropiadamente sus requisitos de carne de ternera AA magra de animales CT o CC alimentados hasta el grado más magro. Las reses vacunas CT estarían un tanto más mezcladas, sin embargo se prevé que las reses vacunas CC podrían alimentarse de manera eficaz de modo que el 80% o más serían de grado magro.

Se observa que en esta descripción y particularmente en las reivindicaciones, términos tales como “comprende”, “comprendido”, “que comprende” y similares pueden tener el significado que se les atribuye en la ley de patentes estadounidense; por ejemplo, pueden significar “incluye”, “incluido”, “que incluye”, y similares; y términos tales como “que consiste esencialmente en” y “consiste esencialmente en” tienen el significado que se les atribuye en la ley de patentes estadounidense, por ejemplo, tienen en cuenta elementos no enumerados explícitamente, pero excluyen elementos que se encuentran en la técnica anterior o que afecta a una características novedosa o básica de la invención.

Estos y otros objetos, características y ventajas de la invención se hacen más evidentes en la siguiente descripción detallada de la invención cuando se toman junto con los dibujos y las reivindicaciones adjuntos que ilustran, a modo de ejemplo, los principios de esta invención.

55 Breve descripción de los dibujos

Una descripción completa y habilitante de la presente invención, incluyendo el mejor modo de la misma, para un experto en la técnica, se expone más particularmente en el resto de la memoria descriptiva, incluyendo referencia a las figuras adjuntas, en las que:

la figura 1 ilustra la curva de crecimiento de animales de producción, tales como aves de corral, cerdos, ovejas y reses vacunas, en la que la fase de crecimiento está correlacionada con el peso del animal.

65 Descripción detallada

Otros objetos, características y aspectos de la presente invención se dan a conocer, o son obvios a partir de, la siguiente descripción detallada. Un experto en la técnica ha de entender que la presente discusión es una descripción de realizaciones a modo de ejemplo solamente y que no pretende limitar los aspectos más amplios de la presente

invención, aspectos más amplios que se realizan en la construcción a modo de ejemplo. De hecho, resultará evidente para los expertos en la técnica que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en la presente invención sin apartarse del alcance o del espíritu de la invención. Por ejemplo, las características ilustradas o descritas como parte de una realización pueden usarse en otra realización para proporcionar todavía una realización adicional. Se pretende que la presente invención cubra tales modificaciones y variaciones que entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

Por conveniencia, ciertos términos empleados en la memoria descriptiva, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas se recogen en el presente documento tal como sigue:

El término “animal” se usa en el presente documento para incluir todos los animales vertebrados, excluyendo a los seres humanos. También incluye un animal individual en todas las fases de desarrollo, incluyendo las fases embrionaria y fetal.

Tal como se usa en el presente documento, el término “animales de producción” se usa de manera intercambiable con “animales de ganado” y se refiere en general a animales criados principalmente para alimento. Por ejemplo, tales animales incluyen, pero no se limitan a, reses vacunas (bovino), ovejas (ovino), cerdos (porcino), aves de corral (aviar) y similares.

Tal como se usa en el presente documento, el término “vaca” o “res vacuna” se usa generalmente para referirse a un animal de origen bovino de cualquier edad. Los términos intercambiables incluyen “bovino”, “ternero”, “novillo”, “toro”, “vaquilla” y similares.

El término “aviar” tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier especie, subespecie o raza de organismo de la clase taxonómica avia, tal como, pero sin limitarse a, organismos tales como pollo, pavo, pato, oca, codorniz, faisanes, loros, pinzones, halcones, cuervos y aves corredoras incluyendo avestruz, emú y casuarina.

Tal como se usa en el presente documento, el término “cerdo” o se usa generalmente para referirse a un animal de origen porcino de cualquier edad. Los términos intercambiables incluyen “cochinillo”, “cerda” y similares.

Tal como se usa en el presente documento, el término “genoma” se refiere a todo el material genético en los cromosomas de un organismo particular. Su tamaño se da generalmente como su número total de pares de bases. Dentro del genoma, el término “gen” se refiere a una secuencia de nucleótidos ordenada situada en una posición particular en un cromosoma particular que codifica para un producto funcional específico (por ejemplo, una proteína o molécula de ARN). Por ejemplo, se sabe que la proteína leptina se codifica por el gen *ob* (obeso) y parece estar implicada en la regulación del apetito, el metabolismo basal y la acumulación de grasa. En general, las características genéticas de un animal, tal como se definen por la secuencia de nucleótidos de su genoma, se conocen como su “genotipo”, mientras que los rasgos físicos del animal se describen como su “fenotipo”.

Tal como se usa en el presente documento, el término “locus” o “loci” se refiere al sitio de un gen en un cromosoma. Los pares de genes, también conocidos como “alelos” controlan los rasgos hereditarios, cada uno en la misma posición en un par de cromosomas. Estos alelos, que también pueden describirse como el “alelotipo” de un animal pueden ambos ser dominantes o recesivos en la expresión de ese rasgo. En cualquier caso, se dice que el individuo es homocigótico para el rasgo controlado por ese par génico. Si el par génico (alelos) consiste en un rasgo dominante y uno recesivo, el individuo es heterocigótico para el rasgo controlado por el par génico.

El término “nucleótido” se refiere generalmente a una subunidad de ADN o ARN que consiste en una base nitrogenada (adenina, guanina, timina o citosina en ADN; adenina, guanina, uracilo o citosina en ARN), una molécula de fosfato y una molécula de azúcar (desoxirribosa en ADN y ribosa en ARN). Miles de nucleótidos se unen para formar una molécula de ADN o ARN. Un “polimorfismo de un solo nucleótido” o SNP se usa en el presente documento para referirse al tipo más común de variación genética en un gen que consiste en un cambio en una sola base en una molécula de ADN. Un ejemplo de un SNP es la transición de citosina (C) a timina (T) en el exón 2 del gen *ob*, correspondiente a una sustitución de arginina (ARG) por cisteína (CYS) en el polipéptido de leptina (Buchanan *et al.* (2002).

Tal como se usa en el presente documento, el término “proteína” se refiere generalmente a una molécula grande compuesta por una o más cadenas de aminoácidos en un orden específico. El orden se determina mediante la secuencia de bases de nucleótidos en el gen que codifica para la proteína. Las proteínas se requieren para la estructura, función y regulación de las células, tejidos y órganos del organismo. Cada proteína tiene una función única.

En la figura 1 se ilustra una curva típica de crecimiento para animales de producción. Las prácticas de producción actuales varían entre las industrias específicas según el punto de la curva en el que se considera que el animal está listo para el sacrificio. Para las aves de corral y los cerdos, por ejemplo, la práctica actual es sacrificar cerca del comienzo de la fase tres en la que la curva de crecimiento empieza a aplanarse. En esta parte de la curva, aumenta la cantidad de tiempo y alimento requerida para producir una libra de aumento de peso, y por tanto la economía establece que el animal debe sacrificarse en ese momento, y sustituirse en la instalación de alimentación por un animal en la segunda fase en la que el aumento de peso es mucho más rápido y eficaz en cuanto a la conversión del alimento. Sin embargo, para las reses vacunas, la práctica actual es sacrificar bastante entrada la fase tres. Durante la fase 3, las reses vacunas

ES 2 298 525 T3

5 acumulan grasa, lo que le da palatabilidad a la carne. Actualmente las reses vacunas se agrupan según el peso e informaciones visuales tales como los rasgos de la raza y contextura. Entonces se encierra el grupo junto y a partir de ese momento se alimenta sustancialmente a cada animal y se mantiene por lo demás de manera uniforme. Cuando se determina que el estado corporal promedio del grupo es un estado corporal deseado, se sacrifican todos los animales del grupo.

10 En la producción de reses vacunas, por ejemplo, se conoce el uso de dispositivos de ultrasonidos para medir la grasa dorsal en algunos animales vivos en un intento por predecir la grasa intramuscular para valorar mejor cuándo se ha alcanzado el estado de grasa corporal deseado. Aunque pueden realizarse mediciones precisas de la grasa dorsal en un animal vivo, se sabe que la grasa dorsal no está correlacionada en ningún grado de precisión con la grasa intramuscular que está veteada en la carne, y que está aceptada porque añade palatabilidad, y conlleva de este modo un precio adicional. La grasa intramuscular real solamente puede evaluarse de manera precisa después de que se ha sacrificado el animal, cuando se clasifica la canal del animal. Por tanto, está limitado el éxito que los cebadores de reses vacunas pueden alcanzar al proporcionar animales sacrificados que satisfagan la calidad AAA de palatabilidad deseada. Actualmente, una empresa de engorde intensivo alimenta a todas las reses vacunas en un intento de garantizar de la manera más económica que el máximo número consiga la calidad más óptima, por ejemplo, la calidad AAA.

20 Las pruebas de genotipo de reses vacunas de cebadero en una situación de engorde intensivo típica realizadas por el presente inventor mostraron una correlación directa entre el genotipo y la acumulación de grasa. Se confinaron las reses vacunas en recintos convencionales, se les alimentó con raciones convencionales y se sacrificaron cuando se distinguió por medios convencionales que estaban listas para el mercado. Se sometieron a prueba las reses vacunas para determinar el genotipo, y se siguieron hasta el momento del transporte para determinar el grado de palatabilidad conseguido. Cada recinto contenía una mezcla de reses vacunas CC, CT y TT no segregadas.

25 Los resultados de la primera prueba (prueba 1) mostraron que, de 73 novillos Hereford sometidos a prueba para determinar el genotipo, 36 eran CT, 37 eran TT, mientras que ninguno era CC. Cuando se sacrificaron, de las 73 reses vacunas, el 48,5% de las canales TT eran de calidad AAA, y el 19,4% de las canales CT eran de calidad AAA.

30 En la prueba 2, de los 50 novillos cruzados de Charolais - Angus sometidos a prueba para determinar el genotipo, se determinó que 9 eran CC, 28 eran CT y 13 eran TT. Cuando se sacrificaron, el 62% de las canales TT eran de calidad AAA, el 29% de las canales CT eran de calidad AAA, y el 11% de las canales CC eran de calidad AAA.

35 En la prueba 3, 13 reses vacunas Charolais en cada uno de los 5 recintos, o un total de 65 animales, se sometieron a prueba para determinar el alelotipo. De las 65 reses vacunas, 29 eran CC, 24 eran CT y 12 eran TT. Había un alto grado de reproducción en las 65 reses vacunas. Cuando se sacrificaron el 58,3% de las canales TT eran de calidad AAA, el 45,5% de las canales CT eran de calidad AAA, y el 38,5% de las canales CC canales eran de calidad AAA.

40 El método de la presente invención contempla agrupar animales de producción según su genotipo o, más específicamente, alelotipo además de usar los criterios fenotípicos empleados actualmente en la práctica de engorde intensivo. Por ejemplo, en una realización de la presente invención, las empresas de engorde intensivo que actualmente agrupan las reses vacunas según el tamaño y la estructura de la constitución, entre otros rasgos fenotípicos, agruparían los animales según el alelotipo, es decir, CC, TC o TT, que está correlacionado con la propensión del animal a acumular grasa, con el fin de gestionar de manera más eficaz la producción. Por tanto, al cebador se le presentan oportunidades para eficacias considerables en la producción de ganado.

45 Actualmente, el cebador alimenta igual a todas sus reses vacunas, incurriendo en los mismos costes para cada animal, y normalmente, con excelentes prácticas de gestión, quizás el 40% recibirá una calidad óptima, tal como AAA, y recibirá el precio adicional por el grado de palatabilidad. De éstas, un número significativo tendrá grasa en exceso y recibirá por tanto un grado de rendimiento reducido.

50 El resto de las reses vacunas, el 60%, será de calidad inferior a AAA, y por tanto recibirá un precio reducido, aunque los costes de engorde intensivo incurridos por el cebador son sustancialmente iguales para estas reses vacunas que reciben la calidad inferior. Agrupar y alimentar las reses vacunas por el genotipo y, más específicamente, alelotipo permite al cebador tratar a cada grupo de manera diferente en vistas de optimizar las estrategias de gestión y aumentar el beneficio.

55 Por ejemplo, según una realización de la presente invención, un grupo de reses vacunas CC tendrá la menor propensión a acumular grasa, y por tanto sería más rentable sacrificar a este grupo antes en la curva de crecimiento, cerca del inicio de la fase 3 en la que la curva de crecimiento se aplanan, ya que éstas tienen la menor posibilidad de satisfacer los requisitos de grasa de la calidad óptima o AAA. Un grupo sacrificado pronto de este tipo tendría un porcentaje muy alto de canales magras, y esta predictibilidad podría por sí misma obtener precios adicionales de las empresas de productos cárnicos que tratan de satisfacer los pedidos que requieren canales magras. Por otro lado, un grupo de reses vacunas TT tendrá la mayor propensión a acumular grasa, y por tanto sería más rentable mantenerlas en alimentación durante más tiempo, ya que es predecible que un alto porcentaje acumularía suficiente grasa intramuscular de modo que la canal sería de calidad AAA y por tanto recibiría un precio adicional. Asimismo, saber que las reses vacunas CT acumulan grasa a una tasa intermedia le permitirá también a la empresa de engorde intensivo gestionar este grupo de manera más eficaz y rentable.

Se contempla que, independientemente de la conveniencia y del precio adicional pagado por cualquier estado de grasa corporal particular en cualquier momento dado, proporcionar a la empresa de productos cárnicos un grupo más uniforme, que es de manera predecible graso o magro, proporcionará al cebador la oportunidad de exigir y recibir un precio adicional, con respecto a los grupos menos uniformes de reses vacunas actualmente disponibles. La empresa de productos cárnicos podrá comprar más de las reses vacunas con un estado de grasa corporal que ésta necesita en realidad, comprando menos reses vacunas en total. La empresa de productos cárnicos puede de este modo gestionar mucho mejor sus existencias, reduciendo los excedentes de canales con estados de grasa corporal menos deseables que se venderían normalmente a un precio reducido.

Por tanto la presente invención proporciona un método que, en una realización, reduce las existencias de las canales en operaciones de empaquetado de carne de ternera reduciendo el número total de reses vacunas adquiridas con el fin de obtener un número deseado de canales de una calidad deseada. El método comprende determinar si los animales disponibles para su adquisición son animales TT (es decir, homocigóticos con respecto al alelo T del gen *ob*), animales CC (es decir, homocigóticos con respecto al alelo C del gen *ob*) o animales CT (es decir, heterocigóticos con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*). Cuando la calidad deseada requiere canales grasas, la empresa de productos cárnicos adquiere animales TT, y cuando la calidad deseada requiere canales magras, la empresa de productos cárnicos adquiere animales CC.

La predictibilidad de acumulación de grasa permite a la empresa de engorde intensivo considerar los precios adicionales disponibles para las canales grasas o magras, y adaptar sus decisiones para maximizar los beneficios. Cuando los costes de producción son altos, tal como cuando los costes de alimentación son altos, la empresa de engorde intensivo puede beneficiarse de sacrificar los animales pronto. Cuando los costes son bajos, puede ser más rentable sacrificarlos más tarde. La empresa de engorde intensivo puede predecir de manera más precisa el estado de grasa corporal particular de un grupo de animales en cualquier momento dado en la curva de crecimiento, y de este modo tomar decisiones de manera más eficaz con respecto a cuándo sacrificar cualquier grupo particular.

El método de la presente invención también contempla que las raciones de alimento podrán adaptarse para conseguir más específicamente un estado de grasa corporal deseado para cada grupo gestionando el genotipo de los animales de producción generalmente, y, en particular, el alelotipo TT/CC/CT.

Entre animales de la misma especie y sustancialmente la misma edad y peso, en los que otros factores determinantes del crecimiento tales como el estado de salud y la dieta son equivalentes, los animales de constitución más pequeña alcanzarán una fase de madurez mostrada a modo de ejemplo por el inicio de la tercera fase de crecimiento, antes que los animales de constitución mayor. Por tanto, los efectos sustanciales de la leptina se harán evidentes antes en tales animales de constitución más pequeña que en animales de constitución mayor.

Cuando otros factores determinantes del crecimiento tales como el estado de salud y la dieta son equivalentes, un grupo de animales de la misma especie, que comparten sustancialmente la misma edad, peso y tipo de constitución alcanzarán la fase de madurez mostrada a modo de ejemplo por el inicio de la tercera fase de crecimiento en un momento sustancialmente más uniforme que un grupo por lo demás equivalente de animales, del que los miembros individuales no comparten sustancialmente el mismo de tipo de constitución. Por tanto, cuando otros factores determinantes del crecimiento son equivalentes, los efectos sustanciales de la leptina empezarán a hacerse evidentes en un momento más uniforme en los animales de un grupo segregado basándose en el tipo de constitución que en los animales de un grupo no segregado de ese modo.

De manera importante, agrupar animales por lo demás similares basándose en la contextura es un medio más preciso de conseguir una uniformidad del estado corporal que agrupar animales por lo demás similares basándose en el peso corporal. En comparación con los animales de constitución grande, los animales de constitución pequeña que son sustancialmente de la misma edad y el mismo peso alcanzarán la tercera fase de crecimiento antes, empezando a acumular cantidades significativas de grasa corporal antes y, por tanto, alcanzan un estado de grasa corporal deseado antes. Si los animales individuales agrupados de este modo tienen diferentes genotipos *ob*, se mostrarán pruebas sustanciales de tal diferencia en momentos sustancialmente uniformes. Entre los animales que comparten sustancialmente el mismo peso y tipo de constitución, los animales TT acumularán grasa más rápido durante la tercera fase de crecimiento que los animales CT, y los heterocigóticos *ob* acumularán grasa más rápido durante la tercera fase de crecimiento que los animales CC.

Una realización de la presente invención proporciona un método para facilitar alcanzar una eficacia mayor en una instalación de alimentación y acabado de ganado comercial proporcionando un método que comprende determinar la predisposición genética de cada animal a acumular grasa determinando el genotipo *ob* y segregar los animales individuales en subgrupos basándose en el genotipo *ob*. Por tanto, usar el método de la presente invención permite a una empresa producir un grupo de animales de ganado que comprende una pluralidad de animales individuales de la misma especie en el que un estado de grasa corporal media de los animales individuales es un estado corporal deseado y en el que los estados de grasa corporal reales de los animales individuales son uniformes de manera mejorada.

El método de la presente invención también proporciona a una empresa de productos cárnicos un grupo más uniforme, que es de manera predecible graso o magro garantizando a la empresa de engorde intensivo la oportunidad de exigir y recibir un precio adicional, con respecto a los grupos menos uniformes de reses vacunas actualmente disponibles. Por ejemplo, según una realización de la presente invención, la empresa de productos cárnicos podrá comprar

más reses vacunas con un estado de grasa corporal que ésta necesita en realidad, comprando menos reses vacunas en total. La empresa de productos cárnicos puede de este modo gestionar mucho mejor sus existencias, reduciendo los excedentes de canales con estados de grasa corporal menos deseables que se venderían normalmente a un precio reducido. La predictibilidad de acumulación de grasa permite a la empresa de engorde intensivo considerar los precios adicionales disponibles para canales grasas o magras, y adaptar sus decisiones para maximizar los beneficios para cada grupo. Cuando los costes en el engorde intensivo son altos, tal como cuando los costes de alimentación son altos, la empresa de engorde intensivo puede beneficiarse de sacrificar los animales pronto. Cuando los costes son bajos, puede ser más rentable sacrificarlos más tarde. La empresa de engorde intensivo, usando el método de la presente invención puede predecir de manera más precisa el estado de grasa corporal particular de un grupo de animales en cualquier momento dado en la curva de crecimiento, y puede de este modo tomar decisiones de manera más eficaz con respecto a cuándo sacrificar cualquier grupo particular.

También se contempla que, cuando la demanda de carne de ternera de calidad óptima, tal como AAA, es alta, las empresas de engorde intensivo pagarán un primer precio para reses vacunas homocigóticas con respecto al alelo T del gen *ob*, y pagarán un segundo precio inferior al primer precio para reses vacunas heterocigóticas con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*, y pagarán un tercer precio inferior al segundo precio para reses vacunas homocigóticas con respecto al alelo C del gen *ob*. Las empresas de productos cárnicos pueden también fijar precios adicionales para las reses vacunas basándose en la calidad de la canal predicha por el genotipo.

Las realizaciones de la presente invención expuestas anteriormente se consiguen reuniendo un conjunto de animales individuales de pesos y tipos de constitución sustancialmente similares que tienen porcentajes de grasa corporal menores que los que se requieren para mostrar a modo de ejemplo el estado de grasa corporal deseado. Antes de o tras reunir tal conjunto en el emplazamiento de una instalación de alimentación de ganado, se determina si el animal es homocigótico con respecto al alelo T del gen *ob*, homocigótico con respecto al alelo C del gen *ob*, o heterocigótico con respecto a ambos alelos T y C.

Puede recogerse una muestra de tejido que contiene ADN cromosómico de cada animal individual para determinar el genotipo *ob*. Pueden usarse medios conocidos para alterar células animales y tratar las muestras de tejido animal de acuerdo con el mantenimiento de la integridad de ADN cromosómico en tales muestras de tejido. Pueden consultarse libros de texto de biología molecular convencionales tales como Sambrook *et al.* eds. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" 2ª ed. Cold Spring Harbor Press (1989) para diseñar protocolos adecuados para el aislamiento de muestras de ADN de los tejidos de elección. Sin embargo se reconocerá que la elección de un tejido o muestra adecuado para el aislamiento del ADN adecuado para determinar el genotipo *ob* depende de múltiples factores incluyendo la facilidad de obtener la muestra del animal y la cantidad de ADN presente en la muestra. Los tejidos de elección incluyen, pero no se limitan a, pelo, células epiteliales, sangre, muestras nasales y vaginales y similares.

Cada muestra se trata mediante métodos convencionales de modo que el ADN cromosómico se purifica o se purifica parcialmente. Entonces se somete a ensayo el ADN purificado para distinguir la presencia en él de un alelo de tipo natural del gen *ob* y un alelo mutante del gen *ob* usando métodos conocidos por un experto en la técnica de biología molecular. Puede usarse cualquier método para determinar el genotipo para determinar el genotipo *ob* en la presente invención. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, secuenciación de ADN, análisis por RFLP, análisis de microsatélites, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), reacción en cadena de la ligasa (LCR), secuenciación de amplímero, hibridación de ácidos nucleicos, análisis de hibridación basado en FRET, cromatografía de exclusión molecular (por ejemplo, cromatografía capilar o en gel), selección de alto rendimiento, espectroscopía de masas y espectroscopía de fluorescencia, de las que todas se conocen bien por un experto en la técnica. En particular, se describen métodos para determinar polimorfismos de nucleótidos, particularmente polimorfismos de un solo nucleótido, en las patentes estadounidenses números 6.514.700; 6.503.710; 6.468.742; 6.448.407; 6.410.231; 6.383.756; 6.358.679; 6.322.980; 6.316.230; y 6.287.766 y revisadas por Chen y Sullivan, Pharmacogenomics J 2003; 3(2):77-96.

Un medio convencional para distinguir los alelos es mediante PCR-RFLP de apareamiento erróneo. Por ejemplo, tal como se aplica a una realización ventajosa de la invención, la amplificación cebada por oligonucleótidos sintéticos del exón 2 del gen *ob* seguida del tratamiento con endonucleasas de restricción del producto de ADN amplificado del mismo usando Kpn 2I da como resultado un corte del amplímero correspondiente al alelo C del gen *ob*, pero el amplímero correspondiente al alelo T no se corta. El genotipo del genotipo puede llevarse a cabo mediante pruebas a la entrada de una instalación de alimentación o en cualquier momento durante la vida del animal, y registrarse convenientemente en una marca para la oreja o similar que se mueve con el animal de modo que está fácilmente disponible.

Una vez que se ha determinado el genotipo, se segregan los animales individuales en grupos en los que cada animal comparte el mismo genotipo *ob*, es decir, *ob*⁻ (un animal TT), *ob* (un animal CT), o *ob*⁺ (un animal CC), según el método de la presente invención. Los animales de cada grupo se mantienen y alimentan juntos, de modo que el entorno, la salud, la nutrición y otras condiciones y necesidades de todos estos animales se mantienen y satisfacen hasta un punto sustancialmente equivalente y por medios sustancialmente equivalentes. Debido a que un animal TT muestra una tasa aumentada de acumulación de grasa corporal en comparación con un animal CT que, a su vez, muestra una tasa aumentada de acumulación de grasa corporal en comparación con un animal CC, las empresas de engorde intensivo pueden tratar a cada grupo de manera diferente con vistas de optimizar las estrategias de gestión y aumentar los beneficios.

La invención también proporciona un método de cría de un animal de ganado con una propensión a acumular grasa corporal como una proporción del peso corporal total a una tasa que es: (i) predecible; (ii) o bien superior a o bien inferior a la de otros animales de ganado de la misma especie cuando tal animal de ganado individual y tales otros animales de ganado individuales se alimentan y se mantienen en condiciones de una equivalencia sustancial; y (iii) comparte un transcurso temporal sustancialmente similar con los animales del mismo origen o similar de manera determinable. Este objetivo se consigue reuniendo animales de ganado macho y hembra de la misma especie y tipos de constitución conocidos, o tejido germinal de los mismos; recoger de cada animal mencionado anteriormente una muestra de tejido que contenga ADN cromosómico; y genotipar cada muestra de tejido según los medios descritos anteriormente, o según medios equivalentes conocidos en la técnica. Los animales de ganado macho y hembra individuales se seleccionan para cruzarse entre sí basándose en el tipo de constitución y el genotipo de modo que:

- (a) puede predecirse que los animales de progenie de tipo de constitución grande, intermedia o pequeña que muestran un peso corporal total mayor, intermedio o inferior en la madurez unos con respecto a otros, con un grado útil de certeza, se producen apareando animales parentales de tipo de constitución grande, intermedia o pequeña, respectivamente;
- (b) puede producirse la progenie CC o TT o CT (que puede predecirse, con un grado útil de certeza, que demuestra respectivamente tasas de acumulación de grasa relativamente inferiores, superiores o intermedias durante la tercera fase de crecimiento de tal progenie) apareando animales parentales con los genotipos ob conocidos según los principios conocidos de herencia; y
- (c) seleccionando animales parentales basándose en el tipo de constitución y el genotipo ob juntos, puede producirse una multiplicidad de la progenie que, con un grado útil de certeza según los principios conocidos de herencia, puede predecirse que, cuando se alimenta y se mantiene sustancialmente en condiciones de equivalencia sustancial, alcanzan un estado de grasa corporal deseado con una uniformidad temporal relativamente mayor que los animales seleccionados según los protocolos de cría existentes.

La progenie de animales TT o CT parentales tendrá una propensión a acumular durante el crecimiento grasa corporal a una tasa mayor que la tasa promedio de acumulación de grasa corporal por otros animales de ganado individuales de la misma especie y edad mantenidos en condiciones de equivalencia sustancial pero criados según otros protocolos que incluirían animales CC. A medida que aumenta la aparición del alelo T en la descendencia, lo hará también la propensión de la descendencia a acumular grasa.

Además, una vez que se conoce el genotipo ob de una progenie particular basándose en el genotipo ob de los progenitores, que puede confirmarse determinando el genotipo ob de la progenie, puede propagarse una progenie adicional de un genotipo particular según los métodos de la invención. Por tanto, una utilidad de la presente invención es la cría selectiva para un genotipo ob particular una vez que se han determinado los genotipos ob de los progenitores, es decir, según los principios de la Genética Mendeliana.

Lo anterior se considera solamente como ilustrativo de los principios de la invención. Además, debido a que a los expertos en la técnica se les ocurrirán fácilmente numerosos cambios y modificaciones, no se desea limitar la invención a la operación exacta mostrada y descrita, y en consecuencia, se pretende que todos estos cambios y modificaciones adecuados en la operación a los que puede recurrirse entren dentro del alcance de la invención reivindicada.

Bibliografía

Patente estadounidense número 6.277.592 concedida a Bidwell, C.A. y Spurlock, M.E. (21 de agosto de 2001) Porcine leptin protein, nucleic acid sequences coding therefore and uses thereof.

Patente estadounidense número 6.297.027 concedida a Spurlock, M.E. (2 de octubre de 2001) Bovine leptin protein, nucleic acid sequences coding therefore and uses thereof.

Patente estadounidense número 6.309.853 concedida a Friedman, J.M., Zhang, Y. y Proenca R. (30 de octubre de 2001) Modulators of body weight, corresponding nucleic acids and proteins, and diagnostic and therapeutic uses thereof.

Barb, C.R., Yan, X., Azain, M.J., Kraeling, R.R., Rampacek, G.B. y Ramsay, T.G. (1998) Recombinant porcine leptin reduces feed intake and stimulates growth hormone secretion in swine. *Domest. Anim. Endocrinol.* 15: 77-86.

Bidwell, C.A., Ji, S., Frank, G.B., Cornelius, S.G., Willis, G.M. y Spurlock, M.E. (1997) Cloning and expression of the porcine obese gene. *Anim. Endocrinol.* 8: 191-206.

Blache, D., Tellam, R.L., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Vercoe, P.E. y Martin G.B. (2000) Level of nutrition affects leptin concentration in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *J. Endocrinol.* 165: 625-637.

Buchanan, F.C., C.J. Fitzsimmons, A.G. van Kessel, T.D. Thue, D.C. Winkelman-Sim y S.M. Schmutz (2002) A missense mutation in the bovine leptin gene is correlated with carcass fat content and leptin mRNA levels. (en prensa)

- Delavaud, C., Bocquier, F., Chilliard, Y., Keisler, D.H., Gertler, A. y Kann G. (2000)** Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 165: 519-526.
- 5 **Ehrhardt, R.A., Slepatis, RM., Siegal-Willott, J., van Amburgh, M.E., Bell, A.W. y Boisclair, Y.R. (2000)** Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *J. Endocrinol.* 166: 519-528.
- Fitzsimmons, C.J., Schmutz, S.M., Bergen, R.D. y McKinnon J.J. (1998)** A potential association between the
10 BM 1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. *Mammalian Genome* 9: 432-434 (1998).
- Freidman, J.M. y Leibel, R.L (1992)** Tackling a weights problem. *Cell* 69: 217-220.
- Halaas, J.L., Gajiwala, K.S., Maffie, M., Cohen, S.L., Chait, B.T., Rabinowitz, D., Lallone, R.L., Burley, S.K.**
15 **y Freidman, J.M. (1995)** Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269: 543-546.
- Henry, B.A., Goding, J.W., Alexander, W.S., Tilbrook, A.J., Canny, B.J., Dunshea, F., Rao, A., Mansell, A. y Clarke, I.J. (1999)** Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the pituitary gland: evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function. 140: 1175-1182.
- Isse, N., Ogawa, Y., Tamura, N., Maxuzaki, H., Mori K. et al (1995)** Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J. Bio. Chem.* 270: 27728-27733.
- 25 **Kennes, Y.M., Murphy, B.D., Pothier, F. y Palin, M.-F. (2001)** Characterization of swine lepin (LEP) polymorphisms and their association with productin traits. *Anim. Genetics* 32: 215-218.
- Kulig, H., Grzesiak, W. y Szatkowska, L (2001)** Effect of leptin gene polymorphism on growth and carcass traits
30 in pigs. *Arch. Tierz. Dummorscorf* 44: 291-296.
- Neuenschwander, S., Rettenberger, G., Meijerink E. Jörg, H y Stranzinger, G. (1996)** Partial characterization of porcine obesity gene (OBS) and its localization to chromosome 18 by somatic cell hybrids *Anim. Genet.* 27: 275-278.
- 35 **Ramsay, T.G., Yan, X. y Morrison, C. (1998)** The obesity gene in swine: sequence and expression of porcine leptin. *J. Anim. Sci.* 76: 484-490.
- Raver, N., Taouis, M., Dridi, S., Derouet, M., Simon, J., Robinzon, B., Djiane J. y Gertler, A. (1998)** Large-scale preparation of biologically active recombinant chicken obese protein (leptin). *Protein Expression and Purification* 14: 403-408.
- Robert, C., Palin, M.-F., Coulombe, N., Roberge, C., Silversides, F.G., Benkel, B.F., McKay, R.M. y Pelletier, G. (1998)** Backfat thickness in pigs is positively associated with leptin mRNA levels. *Can. J. Anim. Sci.* 78: 473-482.
- 45 **Sambrook et al. eds., (1989)** "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" 2^a ed. *Cold Spring Harbor Press*.
- Saskai, S., Clutter, A.C. y Barendse, W. (1996)** Assignment of the porcine obese (leptin) gene to Chromosome 18 by linkage analysis of a new PCR based polymorphism. *Mamm. Genome* 7: 471-471.
- 50 **Stone, RT., Kappes, S.M. y Beattie, C.W. (1996)** The bovine monologue of the obese gene maps to chromosome 4. *Mamm. Benome* 7: 399-400.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone M., Leopold, L. y Friedman, J.M. (1994)** Positional cloning of the
55 mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

60

65

REIVINDICACIONES

1. Método para producir subgrupos de animales de ganado de la misma especie, a partir de un grupo de animales de ganado de la misma especie que comprende los subgrupos, en el que los animales de cada subgrupo tienen predisposiciones similares con respecto a la grasa corporal, que comprende:

- (a) determinar la predisposición genética de cada animal a acumular grasa determinando el genotipo *ob*; y
- (b) segregar los animales individuales en los subgrupos basándose en el genotipo *ob*; en el que determinar el genotipo *ob* comprende detectar un polimorfismo del gen *ob*, en el que el polimorfismo del gen *ob* es un polimorfismo de un solo nucleótido y en el que determinar comprende determinar si el animal es un animal TT homocigótico con respecto al alelo T del gen *ob*, un animal CC homocigótico con respecto al alelo C del gen *ob*, o un animal CT heterocigótico con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*.

2. Método según la reivindicación 1, que comprende además reunir un conjunto de animales individuales de peso y tipo de constitución similares, cuyo estado de grasa corporal media es divergente del estado corporal deseado y divergencia que se muestra a modo de ejemplo mediante menores cantidades de grasa corporal, incluyendo grasa intramuscular y grasa dorsal en tales animales individuales que lo que se desea en un animal que tiene el estado corporal deseado.

3. Método según la reivindicación 1, que comprende además mantener los animales del subgrupo juntos y alimentar tales animales hasta que el estado de grasa corporal media de los animales individuales del subgrupo es del estado de grasa corporal deseado.

4. Método según la reivindicación 1, en el que segregar comprende segregar los animales individuales en al menos un subgrupo en el que los animales del subgrupo son:

- (i) animales TT homocigóticos con respecto al alelo T del gen *ob*;
- (ii) animales CC homocigóticos con respecto al alelo C del gen *ob*; o
- (iii) animales CT heterocigóticos con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*.

5. Método según la reivindicación 4, que comprende además segregar los animales individuales en tres subgrupos en los que: (i) los animales de un primer subgrupo son animales TT homocigóticos con respecto al alelo T del gen *ob*; (ii) los animales de un segundo subgrupo son animales CC homocigóticos con respecto al alelo C del gen *ob*; y (iii) los animales de un tercer subgrupo son animales CT heterocigóticos con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*;

- (a) mantener los animales del primer subgrupo juntos y separarlos de los animales de otros subgrupos, y alimentar los animales en el primer subgrupo uniformemente hasta que el estado de grasa corporal media de los animales individuales del primer subgrupo es un primer estado de grasa corporal deseado;
- (b) mantener los animales del segundo subgrupo juntos y separarlos de los animales de otros subgrupos, y alimentar los animales en el segundo subgrupo uniformemente hasta que el estado de grasa corporal media de los animales individuales del segundo subgrupo es un segundo estado de grasa corporal deseado;
- (c) mantener los animales del tercer subgrupo juntos y separarlos de los animales de otros subgrupos, y alimentar los animales en el tercer subgrupo uniformemente hasta que el estado de grasa corporal media de los animales individuales del tercer subgrupo es un tercer estado de grasa corporal deseado.

6. Método según la reivindicación 5, en el que los primer, segundo y tercer estados de grasa corporal deseados son iguales.

7. Método de producción de un animal de ganado de progenie con una propensión predecible a acumular grasa corporal durante el crecimiento que comprende:

- (a) determinar la predisposición genética de ganado macho potencialmente parental y hembra potencialmente parental, o material germinal del mismo, determinando el genotipo *ob*; y
- (b) criar selectivamente individuos de entre animales de ganado macho potencialmente parentales y hembra potencialmente parentales, o material germinal de los mismos, basándose en el genotipo *ob*;

obteniendo de este modo un animal de ganado de progenie con una propensión predecible a acumular grasa corporal durante el crecimiento; en el que determinar el genotipo *ob* comprende detectar un polimorfismo del gen *ob*, en el que el polimorfismo del gen *ob* es un polimorfismo de un solo nucleótido y en el que determinar la predisposición genética

comprende determinar si el animal es un animal TT homocigótico con respecto al alelo T del gen *ob*, un animal CC homocigótico con respecto al alelo C del gen *ob* o un animal CT heterocigótico con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*.

5 8. Método según la reivindicación 7, que comprende además reunir animales de ganado macho potencialmente parentales y hembra potencialmente parentales de la misma especie, o material germinal de los mismos, para permitir la propagación de la progenie.

10 9. Método según la reivindicación 7, en el que criar selectivamente comprende (i) producir un animal de ganado de progenie, con una primera propensión a acumular grasa corporal durante el crecimiento, criando selectivamente animales de ganado macho potencialmente parentales y hembra potencialmente parentales en el que al menos uno de los animales de ganado potencialmente parentales es un animal TT y el otro de los animales parentales es o bien un animal TT homocigótico con respecto al alelo mutante del gen *ob* o bien un animal CT heterocigótico con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*; o (ii) producir un animal de ganado de progenie, con una segunda propensión a
15 acumular grasa corporal durante el crecimiento, criando selectivamente animales de ganado macho potencialmente parentales y hembra potencialmente parentales en el que al menos uno de los animales de ganado potencialmente parentales es un animal CC y el otro de los animales parentales es o bien un animal CC homocigótico con respecto al alelo de tipo natural del gen *ob* o un animal CT heterocigótico con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*.

20 10. Método según la reivindicación 9, en el que la primera propensión a acumular grasa corporal durante el crecimiento es una propensión mayor que la segunda propensión a acumular grasa corporal durante el crecimiento.

11. Método de producción mediante cría de un animal de ganado individual con un genotipo para acumular grasa corporal durante el crecimiento y un fenotipo de un tipo de constitución predecible en la madurez, que comprende:

- 25 (a) determinar el genotipo de un ganado macho potencialmente parental y uno hembra potencialmente parental, o material germinal del mismo, determinando el genotipo *ob* del mismo;
- 30 (b) determinar el fenotipo para un tipo de constitución predecible de cada animal de ganado macho potencialmente parental y hembra potencialmente parental; y
- (c) criar individuos entre los animales de ganado macho potencialmente parentales y hembra potencialmente parentales para seleccionar un animal de ganado individual con un genotipo para acumular grasa corporal durante el crecimiento y un fenotipo de un tipo de constitución deseado;

35 obteniendo de este modo un animal de ganado individual con un genotipo para acumular grasa corporal durante el crecimiento y un fenotipo de un tipo de constitución predecible en la madurez; en el que determinar el genotipo *ob* comprende detectar un polimorfismo del gen *ob*, en el que el polimorfismo del gen *ob* es un polimorfismo de un solo nucleótido y en el que determinar la predisposición genética comprende determinar si el animal es un animal TT homocigótico con respecto al alelo T del gen *ob*, un animal CC homocigótico con respecto al alelo C del gen *ob* o un animal CT heterocigótico con respecto al alelo T y al alelo C del gen *ob*.

12. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la especie de animal de ganado es porcino.

13. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la especie de animal de ganado es una vaca.

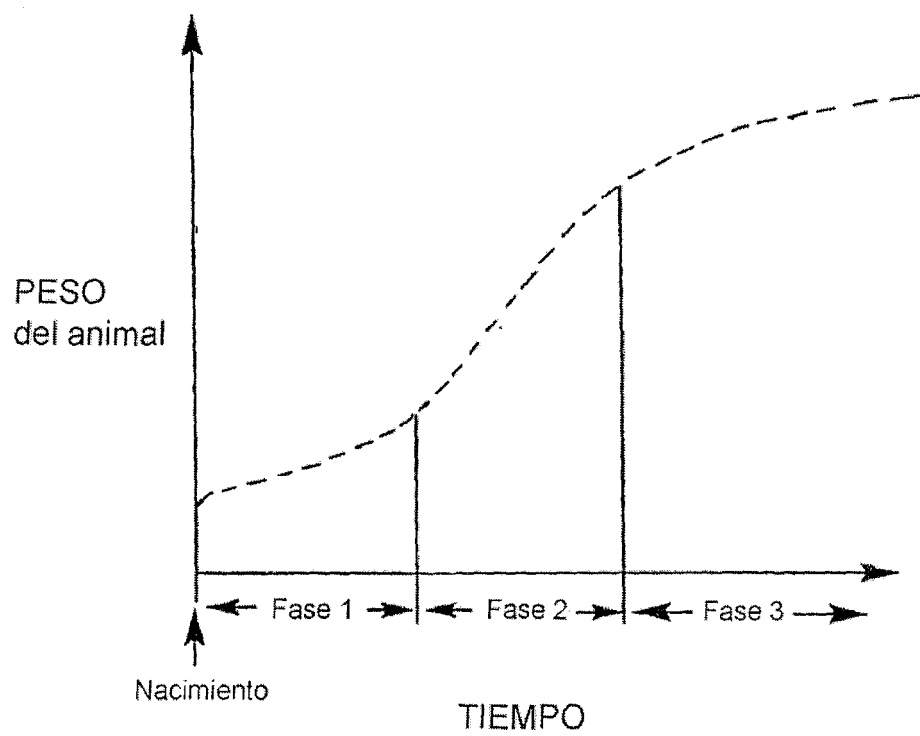


FIGURA 1