

Aplicación de la genómica para identificar genes que influyen sobre características económicamente importantes en animales¹

E. Casas

U. S. Meat Animal Research Center, ARS, USDA, Clay Center, Nebraska²

Application of genomics to identify genes influencing economically important traits in livestock.

ABSTRACT. The objective of this paper was to review the current status of the tools used to identify genes influencing economically important traits in livestock, and give an example using markers developed for meat tenderness. The current linkage maps comprise 4,000 microsatellites and 1,000 single nucleotide polymorphisms. The complete bovine genome sequence is now available. This information will be useful to identify genes affecting production traits. It will also enable identify causative mutations of the traits of interest. There are different methods to identifying causative mutations in the genes of the with quantitative trait loci (QTL); maximum likelihood and mean squares are the most commonly used. Quantitative trait loci have been detected in several bovine chromosomes. The λ -calpain gene has been identified and associated with meat tenderness. Marker information can be now incorporated in animal breeding programs and will improve their overall effectiveness.

Key words: Bovine Genome, Molecular markers, Quantitative Trait Loci, QTL, Sequence.

© 2006 ALPA. Todos los derechos reservados

Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2006. Vol. 14 (1): 24-31

RESÚMEN. El objetivo del presente trabajo fue hacer una revisión del estado de las herramientas utilizadas para identificar genes que influyen sobre caracteres de importancia económica en especies domésticas y ejemplificar su aplicación con genes que se han asociado con la suavidad o ternera de la carne. Actualmente los mapas de ligamiento genético cuentan con más de 4,000 microsatélites y 1,000 polimorfismos de nucleótido sencillo. Recientemente se obtuvo la primera versión de la secuencia completa del genoma bovino. Esta información será útil para identificar a los genes que tengan un efecto en caracteres productivos. Además será posible identificar mutaciones en los genes que puedan ser causantes de la variabilidad de estos caracteres. Existen diferentes métodos de identificar la posición de los genes en los cromosomas (Loci de caracteres cuantitativos o QTL, por sus siglas en Inglés). Máxima verosimilitud o cuadrados medios son las metodologías que se utiliza con frecuencia para detectar QTL. Se han detectado QTL en diferentes cromosomas bovinos. Se ha identificado un gen (λ -calpaína), que se ha visto asociado a la suavidad o ternera de la carne, y se han desarrollado marcadores moleculares en éste. La información provista por estos marcadores permitirá una mejor utilización de otra información obtenida en programas de mejoramiento animal.

Palabras clave: Genoma bovino, Loci de caracteres cuantitativos, Marcadores moleculares, QTL, secuencia.

Introducción

En los diversos sistemas de producción animal se han establecido programas de selección con el objetivo de mejorar la productividad y la composición de la canal. Sin embargo, no se ha realizado selección para características que son costosas de medir ó que tienen una baja heredabilidad, por lo cual es necesario el desarrollo de herramientas que faciliten el mejoramiento de este tipo de características.

Desde hace algún tiempo se ha planteado que los marcadores genéticos, cambiarán la forma en que se selecciona a los animales. Algunas pruebas basadas en estos marca-

dores ya están disponibles y se usan en forma comercial. Los marcadores genéticos tienen diferentes aplicaciones potenciales como es el establecimiento de paternidades (Heaton *et al.*, 2002; Salazar-Marroquín *et al.*, 2004), para determinar si los progenitores son portadores de enfermedades genéticas ó algún defecto ó para establecer la presencia de características cualitativas como sería la presencia de cuernos ó color del pelaje.

La mayoría de las características económicamente importantes se encuentran controladas por muchos genes, cuya identidad por lo general se desconoce. Sin embargo, se conoce su localización aproximada en el genoma a tra-

Recibido: 07-11-05 Aceptado: 17-11-05

¹Trabajo presentado en la XIX Reunión de ALPA y la XXXIII Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal-AMPA. Tampico, México, 26-28 de Octubre 2005.

²E-mail: casas@email.marc.usda.gov

vés del uso de marcadores genéticos desarrollados en estas regiones. Esto ha dado lugar a la posibilidad de usarlas para mejorar características cuantitativas.

El objetivo de este trabajo es describir los avances de la genómica en la identificación de genes que influyen en la productividad animal.

Estado actual de los mapas genéticos

El mapa genético del bovino es un término general que se utiliza para designar la organización del genoma. El primer mapa del bovino fue el cariotipo (Basrur y Moon, 1967), en el que se estableció que el genoma estaba organizado en 29 cromosomas autosómicos más el par de cromosomas sexuales ($2n = 60$). A estos mapas le siguieron los mapas de ligamiento, los cuales estaban compuestos mayoritariamente por marcadores genéticos llamados «microsatélites». Los microsatélites son secuencias de ADN que generalmente contienen repeticiones de 1 a 6 nucleótidos (generalmente dinucleótidos). Estos marcadores genéticos son anónimos, esto es, se conoce su ubicación en el genoma, pero se desconoce si están localizados en regiones intra- o intergénicas (Barendse *et al.*, 1997; Ma *et al.*, 1996; Kappes *et al.*, 1997). La Figura 1 muestra el mapa de ligamiento del cromosoma 2 bovino, en el que se incluyen los marcadores genéticos que se desarrollaron para este cromosoma (Kappes *et al.*, 1997).

El mapa de ligamiento actual contiene casi 4,000 marcadores genéticos (Ihara *et al.*, 2004). Snelling *et al.* (2005), han producido un mapa de ligamiento conteniendo aproximadamente 1,000 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en Inglés), basándose en mutaciones observadas en genes que se expresan en diferentes tejidos del bovino.

El siguiente paso en la identificación de los genes responsables de la expresión de caracteres productivos en el ganado bovino será utilizar la secuencia del genoma de la especie. Después de la secuenciación del genoma humano (International Human Genome Consortium, 2000; Venter *et al.*, 2000), el número de genomas de especies animales secuenciados o en proceso de secuenciación ha ido en aumento. Dentro de las especies domésticas se incluyen las aves (International Chicken Sequencing Consortium, 2004) y el bovino (www.genome.gov/12512874).

La secuencia del genoma bovino permitirá identificar a los genes que se encuentran en la región donde se hayan detectado Loci de características cuantitativas (QTL, por sus siglas en Inglés). Esta información se utilizará para identificar SNP que pudieran influenciar caracteres productivos en el ganado bovino.

Detección de loci de caracteres cuantitativos

El concepto de detectar marcadores genéticos asociados con caracteres productivos se ha aplicado desde hace algunas décadas. En los primeros estudios, se utilizaron como marcadores los polimorfismos de proteínas séricas y antígenos eritrocitarios como marcadores genéticos (McClure, 1952). Posteriormente, se utilizó el polimorfismo encontrado en los grupos sanguíneos (Larsen *et al.*, 1985) y en el sistema mayor de histocompatibilidad (Batra *et al.*, 1989; Stear *et al.*, 1989). Sin embargo, el poder de detección

de estos estudios se limitaba a las regiones del genoma donde se encuentran estos marcadores. Fue hasta que se desarrollaron los mapas de ligamiento que se pudo hacer una búsqueda a través de todo el genoma para encontrar los QTL.

La contribución de los genes que están involucrados en la expresión de un carácter se puede evaluar seleccionando genes candidatos. Los genes candidatos son aquellos involucrados en la fisiología del carácter. Como ejemplo, la hormona del crecimiento es un gen candidato para la tasa de crecimiento, o peso al destete. La secuencia de ADN del gen candidato permite identificar marcadores que se encuentran en el gen, o cerca de éste. Estos marcadores son entonces utilizados para posicionar al gen en el mapa de ligamiento, y para establecer su asociación con el carácter de interés. Como ejemplo, si un marcador se identifica en la hormona del crecimiento, las diferentes formas del marcador (conocidos como alelos) se utilizarían para establecer si un alelo del marcador genético está asociado a crecimiento lento (6 pesos al destete ligeros), mientras el otro alelo está asociado con crecimiento rápido (6 pesos al destete mayores). Esta estrategia permite establecer el efecto de un gen en la expresión de un carácter productivo.

Aún cuando el uso de los genes candidatos parece un proceso lógico, se han caracterizado pocos genes, ya que los genes involucrados en la expresión de un carácter son por lo general desconocidos. El genoma humano contiene 30,000 genes, de los cuales aproximadamente a unos 13,000 se les desconoce alguna función (Venter *et al.* 2000). En muchos casos la secuencia del gen indica su potencial función (hidrolasa, isomerasa, ligasa, oxidoreductasa, etc.) pero se desconoce el proceso biológico en el que participan o bien su interacción con otros genes. Por lo tanto, seleccionar un gen candidato sin entender su relación con otros genes podría conducir a malas elecciones en estudios de esta naturaleza.

Las búsquedas genómicas (ó barridos genómicos) son la estrategia de elección para detectar QTL. El objetivo inicial es el de identificar la posición del gen ó los genes que controlan o están involucrados en la expresión de un carácter de interés productivo en los cromosomas. El objetivo final será el de identificar al gen responsable, y a la mutación ó mutaciones asociadas con diferencias en la expresión de un carácter productivo.

Las búsquedas genómicas se hacen dentro de familias (medios hermanos, hermanos completos, ó retrocruzamientos). Se seleccionan marcadores genéticos espaciados en intervalos regulares a lo largo de cada cromosoma (Figura 1). Se establece por medio de técnicas de biología molecular, cuales alelos ha heredado de los progenitores cada miembro de la familia.

Las asociaciones entre marcadores genéticos con caracteres productivos no es un concepto nuevo (Smith, 1967). El descubrimiento de las enzimas de restricción (enzimas que cortan el ADN en regiones donde reconoce la secuencia), el desarrollo de los "Southern blottings" (Southern, 1975), permitieron evaluar los sitios de restricción polimórficos, y establecer asociaciones con caracteres pro-

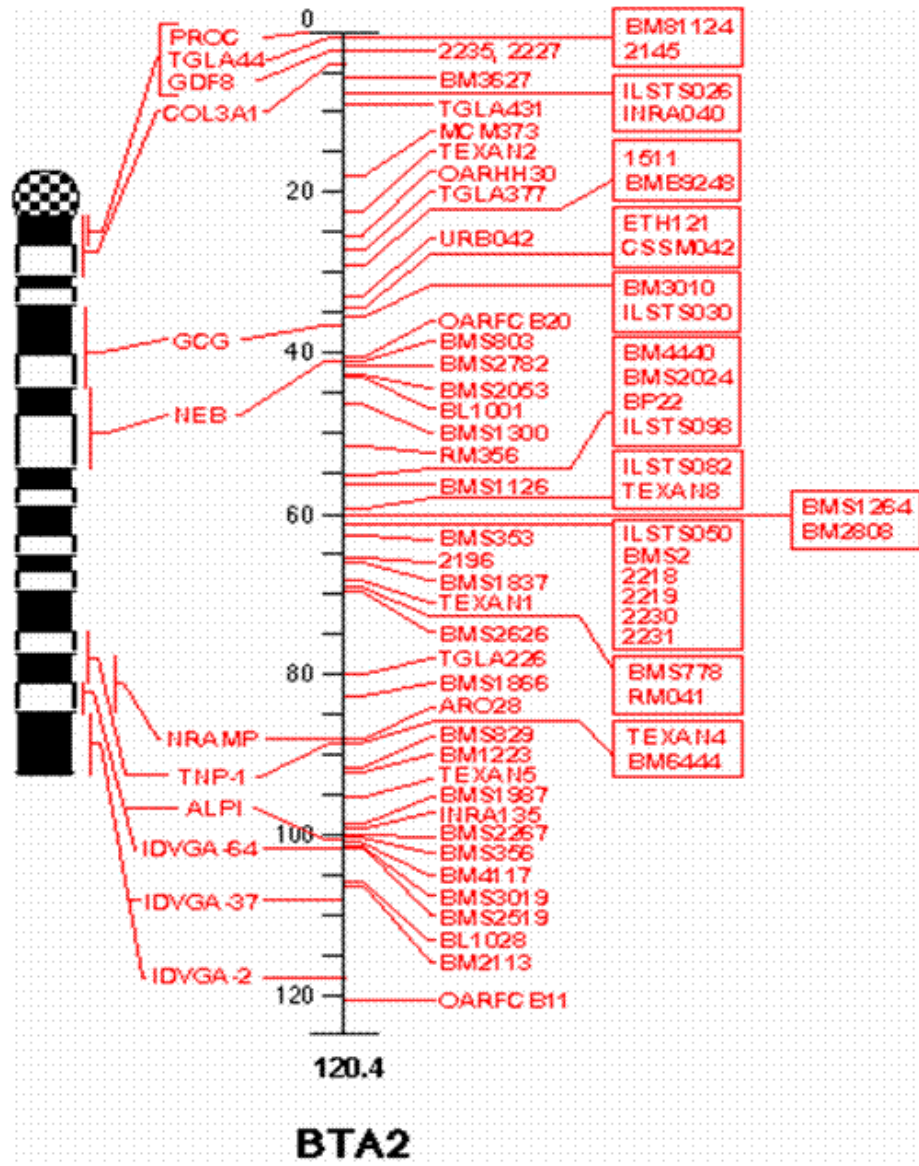


Figura 1. Mapa de ligamiento del cromosoma bovino 2 (BTA2). El diagrama indica el orden de los marcadores genéticos a lo largo del mapa de ligamiento de este cromosoma. También se indica la posición relativa de cada marcador genético en el cromosoma (Kappes *et al.*, 1997).

ductivos. Posteriormente, con el descubrimiento de los microsatélites (Litt y Luty, 1989; Weber y May, 1989) y de la reacción en cadena de la polimerasa (Saiki *et al.*, 1988), fue posible evaluar familias grandes en corto tiempo. La Figura 2 muestra en forma gráfica como se puede identificar el cromosoma que contiene al gen responsable de un carácter de interés. En esta figura, cada animal es representado con tres pares de cromosomas (A, B, y C). Animales con pelaje rojo son cruzados con animales con pelaje negro. La progenie (generación F1), es usada en cruzamientos entre ellos para producir la siguiente generación (F2). Dado que el color de pelaje negro es dominante sobre el pelaje rojo, todos los animales de la generación F1 son de color negro. Asimismo se observa que la generación es heterocigótica ya que en los tres pares de cromosomas, heredaron un cromosoma rojo y uno negro de cada uno de los

progenitores. La variación fenotípica se ve maximizada en la generación F2. Utilizando marcadores genéticos y conociendo el modo de acción del gen (el color de pelaje rojo es recesivo), se puede identificar el cromosoma en el que se encuentra el gen responsable del color del pelaje. En este ejemplo, el gen se encuentra en el cromosoma B. Haciendo uso de marcadores genéticos, no solo se puede identificar al cromosoma donde se localizan los genes, sino que también se puede ubicar la región en el cromosoma donde éste reside.

Se han utilizado diferentes métodos para identificar las regiones genómicas donde se encuentran genes que influyen en la expresión de caracteres productivos en el ganado productor de carne. Lander y Botstein (1989) propusieron que la detección de QTL fuera por el método de mapeo de intervalo. Este método consiste en establecer la verosimili-

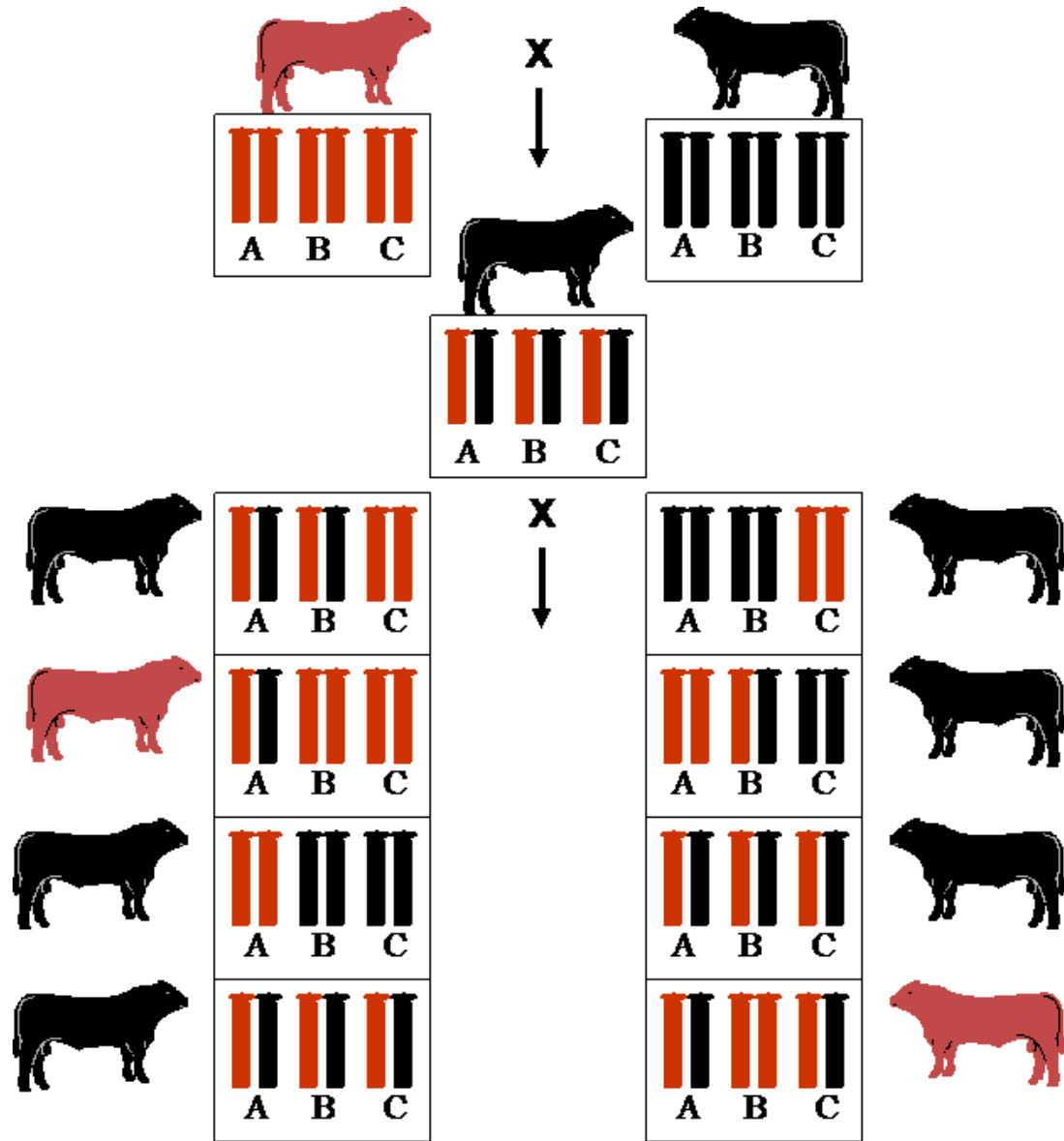


Figura 2. Diagrama de un pedigrí con tres generaciones. Angus rojo fue utilizado en un cruzamiento con Angus negro para producir la generación F1. Animales F1 fueron cruzados entre sí para producir la generación F2. Se han representado gráficamente tres pares de cromosomas, denominados A, B, y C. Los cromosomas rojos se originaron de la raza Angus rojo, y los negros de la Angus negra. En éste ejemplo se considera que el color del pelaje se debe a un gen, donde el color negro es dominante sobre el rojo. Cuando se estudian los cromosomas, se aprecia que el gen que afecta al color del pelaje se encuentra en el cromosoma B. Esto se debe a que los animales con el pelaje rojo tienen dos copias del cromosoma rojo, mientras los demás animales tienen al menos una copia del cromosoma proveniente de la raza Angus negra (Adaptado de Rohrer, 2004).

tud de que un gen se encuentre en el intervalo comprendido entre dos marcadores genéticos. Knott y Haley (1992) utilizaron el método de máxima verosimilitud para detectar QTL en familias de hermanos completos. Posteriormente, Haley *et al.* (1994) desarrollaron una técnica por la que se puede utilizar el mapeo de intervalo utilizando el método de mínimos cuadrados. Recientemente, Varona *et al.* (2001) y von Rohr y Hoeschele (2002) utilizaron metodología Bayesiana para detectar QTL.

Se debe establecer el procedimiento idóneo en la detección de QTL. Esto dependerá de la estructura de la pobla-

ción, el carácter en estudio y los recursos disponibles.

Loci de caracteres cuantitativos (QTL)

La disponibilidad de marcadores genéticos a lo largo de cada uno de los cromosomas bovinos ha permitido hacer búsquedas genómicas para una variedad de caracteres productivos en especies domésticas. Como ejemplo, en el ganado lechero, el énfasis ha sido en identificar las regiones genómicas donde se encuentran los genes que inciden en la producción láctea y los componentes de la leche (Georges *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 1998), así como también en genes que pudieran influir en la susceptibilidad ó resis-

tencia del animal a enfermedades mamarias (Rodríguez-Zas *et al.*, 2002).

Se han enfatizado caracteres asociados a la calidad de la carne porque son de gran importancia económica, pero además porque son difíciles y costosos de medir. Entre ellos se incluye a la terneza ó suavidad de la carne. La identificación de QTL asociados a estos caracteres permitirá seleccionar animales a edades tempranas sin la necesidad de invertir recursos para estimar su valor genético, ya que la mayoría de estos caracteres requieren el sacrificio del animal.

Se han localizado QTL para caracteres relacionados con fases iniciales del crecimiento. Como ejemplo, se han detectado QTL para el peso al nacimiento en once diferentes cromosomas. Sin embargo, estudios independientes han confirmado la existencia de al menos cinco cromosomas con genes asociados a éste carácter. Los QTL para el peso al nacimiento están localizados en los cromosomas 2 (Grosz y MacNeil, 2001; Casas *et al.*, 2003; Kneeland *et al.*, 2004), 3 (Casas *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003), 5 (Li *et al.*, 2002; Casas *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2003), 6 (Casas *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2003; Kneeland *et al.*, 2004) y 21 (Casas *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Casas *et al.*, 2004; Kneeland *et al.*, 2004). No existen genes que se consideren candidatos que puedan explicar la variación de éstos QTL, sin embargo, ésta información puede ser utilizada en programas de selección asistida por marcadores genéticos (Dentine, 1992).

Se han propuesto pocos genes candidatos como responsables de la expresión de caracteres productivos en el ganado productor de carne. A continuación se expondrá el caso de marcadores que se han asociado con la suavidad ó terneza de la carne en el ganado productor de carne.

Genes asociados a caracteres cuantitativos

Se han identificado los QTL, ó regiones genómicas donde la evidencia indica que existen genes que influyen en caracteres productivos en el ganado productor de carne. Adicionalmente se han identificado marcadores genéticos que permiten estimar con mayor precisión el valor genético de un animal que porte las características deseadas para este tipo de ganado. El ejemplo que se considerará en el presente trabajo son los marcadores en los genes de la calpastatina y la *ì*-calpaína, los cuales se han asociado con suavidad o terneza de la carne.

La terneza ó suavidad de la carne es uno de los factores más importantes que determinan la satisfacción del consumidor. La jugosidad y el sabor son también importantes, pero existe mayor variabilidad en la terneza de la carne. Más aún, el sabor y la jugosidad son influenciados más por la forma de preparación del producto que por las características de la carne. Esto implica que existe mayor posibilidad de producir carne más tierna por medio de programas de selección.

Dentro de los factores bioquímicos y genéticos que se han identificado como responsables del ablandamiento de la carne se encuentra el sistema proteolítico de las calpaínas. La proteasa activada con niveles micromolares de calcio (m-calpaína) y la proteasa activada con niveles

micromolares de calcio (*ì*-calpaína), son las dos enzimas responsables por el ablandamiento postmortem, aunque se ha indicado que la *ì*-calpaína es la principal enzima responsable de este proceso. Se sabe que la calpastatina es el inhibidor natural de las calpaínas en el sistema de proteólisis de la carne (Koochmaraie, 1996).

La calpastatina se considera un gen candidato, ya que se sabe que actúa como inhibidor natural de las calpaínas en el sistema de proteólisis de las calpaínas en la carne (Koochmaraie, 1996). La calpastatina se localiza en el cromosoma bovino 7 (Kappes *et al.*, 1997). Se han desarrollado marcadores en este gen (Nonneman *et al.*, 1999; Barendse, 2002). Barendse (2002) ha sido el único en establecer la asociación de un marcador genético en este gen con la suavidad de la carne.

El gen de la *ì*-calpaína se localiza en el cromosoma 29 (Smith *et al.*, 2000). Se han identificado diferentes polimorfismos en el gen, los cuales han sido utilizados para asociar a este gen con la terneza de la carne (Page *et al.*, 2002; White *et al.*, 2005).

Casas *et al.* (2000), utilizando una familia de medios hermanos producida a partir de un semental obtenido del cruzamiento entre un semental Piedmontese y una vaca Angus, identificó que en la región telomérica del cromosoma 29 se encontraba un QTL para la terneza de la carne. Smith *et al.* (2000) observaron que el gen de la *ì*-calpaína se encontraba en la misma región donde se encontraba el QTL para la terneza de la carne. Dos polimorfismos que causan cambios en la composición de aminoácidos en la proteína fueron detectados (Page *et al.*, 2002). Se estableció que estos polimorfismos se encuentran asociados con la terneza de la carne.

Los polimorfismos fueron validados en poblaciones abiertas. Una vez que los marcadores fueron validados en dos familias, era necesario establecer si el efecto de los marcadores podía ser detectado en poblaciones abiertas. Page *et al.* (2004), utilizando una población de razas *Bos taurus*, pudieron comprobar que el efecto de los polimorfismos en el gen de la *ì*-calpaína era similar al previamente encontrado. Esto permitió desarrollar marcadores genéticos útiles en la industria de la carne para obtener una mayor exactitud en la predicción del valor genético de los animales para la terneza de la carne.

La identificación de marcadores genéticos en el gen de la *ì*-calpaína ha continuado (White *et al.*, 2005). White *et al.* (2005) encontraron polimorfismos adicionales en el gen. Un polimorfismo en particular ha sido utilizado exitosamente en diferentes razas. El polimorfismo explicó una porción de la variación de la terneza de la carne tanto en poblaciones de *Bos taurus*, *Bos indicus* y en animales *Bos taurus* con influencia de *Bos indicus*. Se considera que estos polimorfismos son solamente marcadores asociados con la terneza de la carne.

Uso de los marcadores genéticos para caracteres cuantitativos

Actualmente la selección de animales se basa en su mérito genético, el cual se evalúa a través de las diferencias esperadas de la progenie (DEP). Estas se calculan a partir

de las mediciones (fenotipo) de las características de interés. Las DEP en general se calculan para características que son fáciles y con bajo costo de medición, como los pesos a diferentes edades ó las ganancias de peso en diferentes periodos.

El interés en el uso de los marcadores genéticos se ha concentrado en la precisión de la predicción del mérito genético de animales para características que son difíciles ó costosas de medir. Estas características incluyen la eficiencia alimenticia, la eficiencia reproductiva, la resistencia a enfermedades, y la composición de la canal (Thallman, 2004). El interés en la generación de marcadores genéticos para este tipo de características se debe a que es difícil y costoso hacer mejoramiento genético usando métodos convencionales basados en las diferencias esperadas de la progenie.

Información errónea ha llevado a algunos productores a concluir que las diferencias esperadas de la progenie serán innecesarias cuando se cuente con marcadores genéticos para características de composición de la canal. La metodología adecuada para calcular en forma precisa el mérito genético de un animal es combinando la información fenotípica medida en el animal, con la información de los marcadores genéticos. Se calculan las diferencias esperadas de la progenie y estos son ajustados por el efecto que el marcador genético tenga para ese QTL. Esta es la forma más eficiente de usar la información de los marcadores genéticos en el proceso de selección para una característica cuantitativa.

Consideraciones Finales

Las características de productividad y de composición de la canal son por naturaleza cuantitativas, ya que son influenciadas por varios genes. Los experimentos de QTL permiten localizar el sitio donde se inicia la búsqueda de los genes que afectan a cualquier característica de productividad o de composición de la canal en poblaciones experimentales. Existen diferentes procedimientos por los que se pueden identificar genes que se consideran candidatos ó responsables por la expresión de una característica cuantitativa. Se deben detectar marcadores genéticos dentro ó cerca de los genes candidatos para establecer su asociación con características cuantitativas. El cálculo de las diferencias esperadas de la progenie es el método actualmente utilizado para establecer el mérito genético de los animales en los programas de selección. El uso óptimo de la información de los marcadores genéticos será para ajustar las diferencias esperadas de la progenie. El uso de los marcadores genéticos permitirá establecer con mayor precisión el verdadero mérito genético de los animales, particularmente cuando la precisión de la DEP es baja o para características de gran valor económico pero difíciles o muy costosas de medir.

La secuenciación del genoma bovino permitirá identificar con mayor facilidad genes que pudieran estar involucrados en la expresión de un carácter productivo. Aquellos genes que se localicen en el área que abarca el QTL podrán ser considerados como para explicar la varia-

ción del carácter. Será posible identificar polimorfismos en el gen que permitan evaluar la asociación del polimorfismo con diferencias en la expresión del carácter productivo. Aún cuando el polimorfismo no sea el responsable de las diferencias en la expresión del carácter, será posible utilizarlo como un predictor, siempre y cuando el marcador se encuentre en desequilibrio de ligamiento con la mutación causal.

Pocos genes candidatos que influyen en caracteres productivos se han identificado en las diferentes especies domésticas. Aquellos que han sido identificados están siendo utilizados para incrementar la cantidad y calidad de la carne. Esta información permitirá tener un mayor conocimiento de los procesos genéticos por los cuales se expresa un carácter productivo, así como también hacer mejores evaluaciones genéticas de los animales.

Con la implementación de programas de selección asistida con marcadores en ganado bovino se esperaría que las frecuencias alélicas de esta especie experimente cambios significativos con consecuencias que pudieran afectar a las poblaciones bovinas. Por lo tanto, la conservación de recursos genéticos será un componente de importancia en el futuro, ya que permitirá tener acceso a la variación genética que se esté perdiendo.

Literatura Citada

- Barendse, W., D. Vaiman, S. J. Kemp, Y. Sugimoto, S. M. Armitage, J. L. Williams, H.S. Sun, A. Eggen, M. Agaba, S.A. Aleysin, M. Band, M.D. Bishop, J. Buitkamp, K. Byrne, F. Collins, L. Cooper, W. Coppettiers, B. Denys, R.D. Drinkwater, K. Easterday, C. Elduque, S. Ennis, G. Erhardt, L. Ferreti, N. Flavin, Q. Gao, M. Georges, R. Gurung, B. Harlizius, G. Hawkins, D.J.S. Hetzel, T. Hirano, D. Hulme, C. Jorgensen, M. Kessler, B.W. Kirkpatrick, B. Konfortov, S. Kostia, C. Kuhn, J. A. Lenstra, H. Leveziel, H.A. Lewin, B. Leyhe, L. Lil, I. Martin Burriel, R.A. McGraw, J.R. Miller, D.E. Moody, S.S. Moore, S. Nakane, I.J. Nijman, I. Olsaker, D. Pomp, A. Rando, M. Ron, A. Shalom, A.J. Teale, U. Thieven, B.G.D. Urquhart, D.-I. Vage, A. Van der Weghe, S. Varvio, R. Velmala, J. Vilki, R. Weikard, C. Woodside, J.E. Womack, M. Zannotti, and P. Zaragoza, 1997. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mamm. Genome*. 8:21-28.
- Barendse, W. J. 2002. DNA markers for meat tenderness. International patent application PCT/AU02/00122, international patent publication WO 02/064820 A1.
- Basrur, P. K., and Y. S. Moon. 1967. Chromosomes of cattle, bison, and their hybrid, the cattalo. *Am. J. Vet. Res.* 126:1319-1325.
- Batra, T. R., A. J. Lee, J. S. Gavora, and M. J. Stear. 1989. Class I alleles of the major histocompatibility system and their association with economic traits. *J. Dairy Sci.* 72:2115-2124.
- Casas, E., S.D. Shackelford, J.W. Keele, R.T. Stone, S.M. Kappes and M. Koohmaraie. 2000. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *J. Anim. Sci.* 78:560-569.
- Casas, E., S. D. Shackelford, J. W. Keele, M. Koohmaraie, T. P. L. Smith, and R. T. Stone. 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *J. Anim. Sci.* 81:2976-2983.
- Dentine, M.R., 1992. Marker-assisted selection in cattle. *Anim. Biotech.* 3:81-93.
- Georges, M., D. Nielsen, M. Mackinnon, A. Mishra, R. Okimoto, A.T. Pasquino, L.S. Sargeant, A. Sorensen, M.R. Steele, X. Zhao, J.E. Womack and I. Hoeschele, 1995. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics* 139:907-920.
- Grosz, M. D. and M. D. MacNeil. 2001. Putative quantitative trait locus affecting birth weight on bovine chromosome 2. *J. Anim. Sci.* 79:68-72.

- Haley, C. S., S. A. Knott, and J. M. Elsen. 1994. Mapping QTL in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics* 136:1195-1207.
- Heaton, M. P., G. P. Harhay, G. L. Bennett, R. T. Stone, W. M. Grosse, E. Casas, J. W. Keele, T. P. L. Smith, C. G. Chitko-McKown, and W. W. Laegeid. 2002. Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle. *Mamm. Genome* 13:272-281.
- Ihara, N., A. Takasuga, K. Mizoshita, H. Takeda, M. Sugimoto, Y. Mizoguchi, T. Hirano, T. Itoh, T. Watanabe, K. M. Reed, W. M. Snelling, S. M. Kappes, C. W. Beattie, G. L. Bennett, and Y. Sugimoto. 2004. A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome Res.* 14:1987-1998.
- International Chicken Sequencing Consortium. 2004. Sequencing and comparative analysis of the chicken sequencing provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432:695-716.
- International Human Genome Mapping Consortium. 2000. A physical map of the human genome. *Nature* 409:934-941.
- Kappes, S. M., J. W. Keele, R. T. Stone, R. A. McGraw, T. S. Sonstegard, T. P. L. Smith, N. Lopez-Corrales and C. W. Beattie, 1997. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res.* 7:235-249.
- Kim, J.-J., F. Farnir, J. Savell, and J. F. Taylor. 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. *J. Anim. Sci.* 81:1933-1942.
- Kneeland, J., C. Li, J. Basarab, W. M. Snelling, B. Benkel, B. Murdoch, C. Hansen, and S. S. Moore. 2004. Identification and fine mapping of quantitative trait loci for growth traits on bovine chromosomes 2, 6, 14, 19, 21, and 23 within one commercial line of *Bos taurus*. *J. Anim. Sci.* 82:3405-3414.
- Knott, S. A. and C. S. Haley. 1992. Maximum likelihood mapping of quantitative trait loci using full-sib families. *Genet.* 132:1211-1222.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. *Meat Sci.* 43:5193-5201.
- Lander, E. S. and D. Botstein, 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185-199.
- Larsen, B., N. E. Jensen, P. Madsen, S. M. Nielsen, O. Kalstrup, and P. S. Madsen. 1985. Association of the M blood group system with bovine mastitis. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 16:165-173.
- Li, C., J. Basarab, W. M. Snelling, B. Benkel, B. Murdoch, and S. S. Moore. 2002. The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *J. Anim. Sci.* 80:1187-1194.
- Litt, M., and J. A. Luty. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the *cardiac muscle actin* gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44:397-401.
- Ma, R. Z., J. E. Beever, Y. Da, C. A. Green, I. Russ, C. Park, D. W. Heyen, R. E. Everts, S. R. Fisher, K. M. Overton, A. J. Teale, S. J. Kemp, H. C. Hines, G. Guerin, and H. A. Lewin. 1996. A male linkage map of the cattle (*Bos taurus*) genome. *J. Hered.* 87:261-271.
- Machado, M. B. B., M. M. Alencar, A. P. Pereira, H. N. Oliveira, E. Casas, L. L. Coutinho, and L. C. A. Regitano. 2003. QTL affecting body weight in a candidate region of cattle chromosome 5. *Genet. and Mol. Biol.* 26(3):259-265.
- McClure, T. J. 1952. Correlation study of bovine erythrocyte antigen A and butter-fat test. *Nature* 170:327.
- Nonneman, D., S. M. Kappes, and M. Koohmaraie. 1999. Rapid communication: A polymorphic microsatellite in the promoter region of the bovine *Calpastatin* gene. *J. Anim. Sci.* 77:3114-3115.
- Page, B. T., E. Casas, M. P. Heaton, N. G. Cullen, D. L. Hyndman, C. A. Morris, A. M. Crawford, T. L. Wheeler, M. Koohmaraie, J. W. Keele, and T. P. L. Smith. 2002. Evaluation of single nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *J. Anim. Sci.* 80:3077-3085.
- Page, B. T., E. Casas, R. L. Quaas, R. M. Thallman, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, S. N. White, G. L. Bennett, J. W. Keele, M. E. Dikeman, and T. P. L. Smith. 2004. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J. Anim. Sci.* 82:3474-3481.
- Rodriguez-Zas, S. L., B. R. Southey, D. W. Heyen, and H. A. Lewin. 2002. Interval and composite interval mapping of somatic cell score, yield, and components of milk in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:3081-3091.
- Rohrer, G. A. 2004. An overview of genomics research and its impact on livestock reproduction. *Reprod., Fertil. and Develop.* 16:47-54.
- Saiki, R. K., D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis, and H. A. Erlich. 1988. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491.
- Salazar-Marroquin E. L., et al. 2004. Evaluación de marcadores microsatélites para la verificación de parentesco en ganado Beefmaster y Charolais en el Noreste de México. *Tec. Pec. Mex.* 42:429-435.
- Smith, C. 1967. Improvement of metric traits through specific genetic loci. *Anim. Prod.* 9:349-358.
- Smith, T. P. L., E. Casas, C. E. Rexroad III, S. M. Kappes, and J. W. Keele. 2000. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a QTL for meat tenderness. *J. Anim. Sci.* 78:2589-2594.
- Snelling, W. M., E. Casas, R. T. Stone, J. W. Keele, G. P. Harhay, G. L. Bennett, and T. P. L. Smith. 2005. Linkage mapping of bovine EST-based SNP. *BMC Genomics* (In press).
- Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98:503-517.
- Stear, M. J., T. S. Pokorny, N. E. Muggli, and R. T. Stone. 1989. The relationship of birth weight, preweaning gain with the bovine major histocompatibility system. *J. Anim. Sci.* 67:641-649.
- Thallman, R. M. 2004. DNA testing and marker assisted selection. *Proc. Beef Improv. Fed. 36th Ann. Res. Symp. Ann. Meet.* May 25-28, Sioux Falls, DS, USA. Pp. 20-25.
- Varona, L., L. A. Garcia-Cortes, M. Perez-Enciso. 2001. Bayes factors for detection of quantitative trait loci. *Genet. Sel. Evol.* 33:133-152.
- Venter, J. C., M. D. Adams, E. W. Myers, P. W. Li, R. J. Mural, G. G. Sutton, H. O. Smith, M. Yandell, C. A. Evans, R. A. Holt, J. D. Gocayne, P. Amanatides, R. M. Ballew, D. H. Huson, J. Russo Wortman, Q. Zhang, C. D. Kodira, X. H. Zheng, L. Chen, M. Skupski, G. Subramanian, P. D. Thomas, J. Zhang, G. L. Gabor Miklos, C. Nelson, S. Broder, A. G. Clark, J. Nadeau, V. A. McKusick, N. Zinder, A. J. Levine, R. J. Roberts, M. Simon, C. Slayman, M. Hunkapiller, R. Bolanos, A. Delcher, I. Dew, D. Fasulo, M. Flanigan, L. Florea, A. Halpern, S. Hannenhalli, S. Kravitz, S. Levy, C. Mobarry, K. Reinert, K. Remington, J. Abu-Threideh, E. Beasley, K. Biddick, V. Bonazzi, R. Brandon, M. Cargill, I. Chandramouliswaran, R. Charlab, K. Chaturvedi, Z. Deng, V. Di Francesco, P. Dunn, K. Eilbeck, C. Evangelista, A. E. Gabrielian, W. Gan, W. Ge, F. Gong, Z. Gu, P. Guan, T. J. Heiman, M. E. Higgins, R.-R. Ji, Z. Ke, K. A. Ketchum, Z. Lai, Y. Lei, Z. Li, J. Li, Y. Liang, X. Lin, F. Lu, G. V. Merkulov, N. Milshina, H. M. Moore, A. K. Naik, V. A. Narayan, B. Neelam, D. Nusskern, D. B. Rusch, S. Salzberg, W. Shao, B. Shue, J. Sun, Z. Yuan Wang, A. Wang, X. Wang, J. Wang, M.-H. Wei, R. Wides, C. Xiao, C. Yan, A. Yao, J. Ye, M. Zhan, W. Zhang, H. Zhang, Q. Zhao, L. Zheng, F. Zhong, W. Zhong, S. C. Zhu, S. Zhao, D. Gilbert, S. Baumhueter, G. Spier, C. Carter, A. Cravchik, T. Woodage, F. Ali, H. An, A. Awe, D. Baldwin, H. Baden, M. Barnstead, I. Barrow, K. Beeson, D. Busam, A. Carver, A. Center, M. Lai Cheng, L. Curry, S. Danaher, L. Davenport, R. Desilets, S. Dietz, K. Dodson, L. Doup, S. Ferreira, N. Garg, A. Gluecksmann, B. Hart, J. Haynes, C. Haynes, C. Heiner, S. Hladun, D. Hostin, J. Houck, T. Howland, C. Ibegwam, J. Johnson, F. Kalush, L. Kline, S. Koduru, A. Love, F. Mann, D. May, S. McCawley, T. McIntosh, I. McMullen, M. Moy, L. Moy, B. Murphy, K. Nelson, C. Pfannkoch, E. Pratts, V. Puri, H. Qureshi, M. Reardon, R. Rodriguez, Y.-H. Rogers, D. Romblad, B. Ruhfel, R. Scott, C. Sitter, M. Smallwood, E. Stewart, R. Strong, E. Suh, R. Thomas, N. N. Tint, S. Tse, C. Vech, G. Wang, J. Wetter, S. Williams, M. Williams, S. Windsor, E. Winn-Deen, K. Wolfe, J. Zaveri, K. Zaveri, J. F. Abril, R. Guigo, M. J. Campbell, K. V. Sjolander, B. Karlak, A. Kejariwal, H. Mi, B. Lazareva, T. Hatton, A. Narechania, K. Diemer, A. Muruganujan, N. Guo, S. Sato, V. Bafna, S. Istrail, R. Lippert, R. Schwartz, B. Walenz, S. Yooseph, D. Allen, A. Basu, J. Baxendale, L. Blick, M. Caminha, J. Carnes-Stine, P. Caulk, Y.-H. Chiang, M. Coyne, C. Dahlke, A. Deslattes Mays, M. Dombroski, M. Donnelly, D. Ely, S. Esparham, C. Fosler, H. Gire, S. Glanowski, K. Glasser, A. Glodek, M. Gorokhov, K. Graham, B. Gropman, M. Harris, J. Heil, S. Henderson, J. Hoover, D. Jennings, C. Jordan, J. Jordan, J. Kasha, L. Kagan, C. Kraft, A. Levitsky, M. Lewis, X. Liu, J. Lopez, D. Ma, W. Majoros, J. McDaniel, S. Murphy, M. Newman, T. Nguyen, N. Nguyen, M. Nodell, S. Pan, J. Peck, M. Peterson, W. Rowe, R. Sanders, J. Scott, M. Simpson, T. Smith, A.

- Sprague, T. Stockwell, R. Turner, E. Venter, M. Wang, M. Wen, D. Wu, M. Wu, A. Xia, A. Zandieh, and X. Zhu. 2000. The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-1351.
- Von Rohr, P. and I. Hoeschele. 2002. Bayesian QTL mapping using skewed Student-t distributions. *Gen. Sel. Evol.* 34:1-21.
- Weber, J. L., and P. E. May. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44:388-396.
- White, S. N., E. Casas, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, D. G. Riley, C. C. Chase Jr., D. D. Johnson, J. W. Keele, and T. P. L. Smith. 2005. A new SNP in CAPN1 is associated with tenderness in cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *J. Anim. Sci.* (In press).
- Zhang, Q., D. Boichard, I. Hoeschele, C. Ernst, A. Eggen, B. Murkve, M. Pfister-Genskow, L. A. Witte, F. E. Grignola, P. Uimari, G. Thaller, and M. D. Bishop. 1998. Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics* 149:1959-1973.