

Polimorfismo en el gen de la μ -calpaína en ganado Brahman de registro de México

G.M. Parra-Bracamonte¹, A.M. Sifuentes-Rincón², E.G. Cienfuegos-Rivas, A. Tewolde-Medhin³, J.C. Martínez-González

División de Estudios de Postgrado e Investigación - Unidad Académica Multidisciplinaria Agronomía y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Cd. Victoria, Tamaulipas, México. Centro Universitario Adolfo López Mateos, A. P. 87149

Recibido agosto, 10 2006. Aceptado octubre, 12 2006.

²Laboratorio Biotecnología Animal I

- Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Cd. Reynosa, Tamaulipas, México. Boulevard del Maestro S/N Esq. Elías Piña. Col. Narciso Mendoza. A. P. 152.

³Dirección de Biotecnología y Bioseguridad

- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José, Costa Rica.

Recibido agosto 8, 2006 Aceptado octubre 12, 2006.

Polymorphism in μ -calpain gene of registered Brahman cattle from Mexico

ABSTRACT. The present study was conducted to assess genotypic, allelic and haplotypic frequencies, in Brahman cattle in Mexico, of three single nucleotide polymorphism markers in the μ -calpain gene, previously associated with beef tenderness in European, crossbred, and Zebu cattle (C316, C530, C4751). Three allelic discrimination assays were designed for generation of the said frequencies. The C316 marker showed a high frequency of the heterozygotic genotype (CG = 92%), and frequencies of these alleles were similar (54 and 46% for G and C, respectively). By contrast, for C530, the main segregated genotype was the A alleles homozygote (98%). For C4751, the heterozygotic genotype (CT) had the highest frequency (99%). As to haplotypes, the most frequent compositions were GAT (50%) and CAC (45%). These findings suggest that some favorable alleles for beef tenderness (C in 316 and C4751) are appreciably segregated in the Brahman population sampled. Thus, favorable homozygotic genotypes might be increased by integrated selection programs, including either the single marker or dual marker haplotype evaluation. Further research is needed to determine relationships between meat quality traits (beef tenderness) and productive performance (current selection criteria), thus to promote consumption of Brahman beef and better position it in both national and international markets.

Keywords: Brahman, Calpain, Alleles, Genotypes, Haplotypes, Meat tenderness.

RESUMEN. Se diseñó un estudio en ganado Brahman de México, para caracterizar las frecuencias de tres polimorfismos de un solo nucleótido en el gen de la μ -calpaína (C316, C530, C4751), que previamente se han asociado con suavidad de la carne en razas europeas, cruces y en ganado Cebú. Se realizaron tres ensayos de discriminación alélica para generar frecuencias genotípicas, alélicas y haplotípicas. El marcador C316 mostró la mayor frecuencia en el genotipo heterocigoto (CG = 92%), por lo que las frecuencias de sus alelos fueron similares (54 y 46% para G y C, respectivamente). En contraste, para C530, la mayor frecuencia fue para el genotipo homocigoto con la variante alélica A (98%). Finalmente, para el C4751 el genotipo más frecuente fue el heterocigoto (CT) con 99%. Los haplotipos GAT y CAC (50 y 45%, respectivamente) obtuvieron la mayor frecuencia. Los resultados indican que copias alélicas favorables para suavidad de la carne (C en C316 y C4751) son segregados de manera importante en la población Brahman. Esto sugiere que un manejo asistido de los hatos puede incrementar la frecuencia de genotipos homocigotos favorables para la suavidad de la carne en la población Brahman. Es necesario realizar estudios que relacionen características de calidad (suavidad) y crecimiento (criterio actual de selección) para ayudar a estimular el mayor consumo de la carne de esta raza, brindándole mejor posición en el mercado nacional e internacional.

Palabras clave: Brahman, Calpaína, Alelos, Genotipos, Haplotipos, suavidad de carne.

¹A quien debe dirigirse la correspondencia: pabraman@gmail.com; d_parra@uat.edu.mx

Introducción

La suavidad o "terneza" de la carne, representa una de las características fundamentales en la satisfacción del consumidor (Chacón, 2004), y es considerada el atributo más importante en la palatabilidad de la carne bovina (Marshall, 1999; Mintert *et al.*, 2000).

En los últimos años, la atención e investigación sobre esta característica ha aumentado, debido a su gran variación genética y dificultad de obtener datos fenotípicos que, necesariamente, requieren del sacrificio de los animales (Koochmarai, 1996; Marshall, 1999; White *et al.*, 2005; Casas, 2006).

La búsqueda de evidencia sobre los cambios asociados al incremento de la suavidad de la carne, han indicado como principal responsable a una proteína calcio dependiente, cisteína específica perteneciente al sistema proteolítico de las calpaínas, la μ -calpaína (CAPN1), la cual actúa en la degradación *post mortem* de proteínas estructurales del músculo (Koochmarai, 1996).

Estudios de mapeo y asociación, han logrado demostrar la asociación significativa de marcadores genéticos, dentro del gen CAPN1, con la suavidad de la carne de ganado *Bos taurus* (Smith *et al.*, 2000; Page *et al.*, 2002, 2004) y recientemente en ganado *Bos indicus* (Casas *et al.*, 2005; White *et al.*, 2005).

El ganado Brahman, representativo del tipo Cebú (*Bos indicus*), actualmente es la raza cebuina más numerosa de México. Sus características de rusticidad y adaptación a los ambientes tropicales y subtropicales respaldan su utilización, aprovechán-

dola de manera pura o en cruzamientos con ganado exótico y criollo (*Bos taurus*). Sin embargo, la calidad de su carne en términos de suavidad ha sido calificada como pobre en comparación con la de razas *Bos taurus* o sintéticas (Marshall, 1999). Esta condición, ha sido asociada a una ausencia de copias de alelos favorables del gen de la calpaína (Page *et al.*, 2004; Casas *et al.*, 2005; White *et al.*, 2005) o a una mayor actividad de la calpastatina, proteína inhibidora endógena de la actividad de la calpaína (Pringle *et al.*, 1997; Odeh, 2003). Desafortunadamente, la consecuencia de esto es que los compradores de ganado generalmente descuentan valor a los becerros que manifiestan la apariencia cebuina (Riley *et al.*, 2003).

La mejora genética del ganado tropical que ha sido encaminada hacia mayores ganancias de peso, sin perder los beneficios de la adaptabilidad del ganado Brahman o cruzado (Riley *et al.*, 2003), debería considerar la característica de terneza de la carne para estimular una nueva cultura de consumo de carne bovina, lo que eventualmente ofrecería beneficios al sector ganadero y, particularmente, al ganado Cebú, debido a su uso extensivo en sistemas de producción del trópico.

El propósito de este estudio, fue caracterizar el polimorfismo de tres marcadores en el gen de la CAPN1, en una población de ganado Brahman de registro de México, en términos de las frecuencias genotípicas y haplotípicas, que han sido asociadas a suavidad de la carne.

Materiales y Métodos

Fueron utilizadas 85 muestras de sangre de animales de la raza Brahman de cinco hatos pertenecientes a miembros de la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú (AMCC) con sede en Tampico, Tamaulipas, México. El manejo general de los animales muestreados, se realizó de acuerdo a los lineamientos del Programa de Control de Desarrollo Ponderal de la AMCC (AMCC, 1996) e incluyó el pesaje e identificación de los becerros al momento del nacimiento (primeros cinco días de vida) y la identificación con tatuaje en la oreja o mediante un arete de plástico. Los becerros permanecieron con sus madres hasta una edad aproximada de ocho meses. En algunas explotaciones se complementa la alimentación de los becerros con concentrados durante la fase de predestete en corrales trampa. En este primer período, los animales recibieron tratamientos contra parásitos internos y externos, así como la primera apli-

cación de vacunas contra enfermedades endémicas como, carbón sintomático, edema maligno, pasteurelisis, rabia y, en hembras, la brucelosis. Al momento del destete, los animales fueron identificados con hierro candente con el número de identidad y el último dígito del año en que nacieron, así como el "fierro" de propiedad; durante este manejo se aprovecha para dar tratamientos contra las enfermedades antes mencionadas y registrar el destete. El desarrollo de los animales se realiza en lotes separados por sexo, y dependiendo de la explotación (criador), los animales se mantienen en condiciones de pastoreo, semiestabulación o estabulación (AMCC, 1996; Martínez, 1999).

Las muestras, se extrajeron de acuerdo a la disposición de los ganaderos de 84 vacas y un semental de registro. Fueron recolectados, aproximadamente 3 ml de sangre de la vena o arteria caudal, en tubos

(Vacutainer®) que contenían EDTA, y posteriormente fueron mantenidos en refrigeración hasta el momento de la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN). La extracción de ADN, se realizó siguiendo el protocolo adaptado con el del estuche comercial de purificación de ADN genómico (Wizard®; Promega, 2002). Se diseñaron tres ensayos de discriminación alélica, para determinar el polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs) en tres de los marcadores de CAPN1 (C316, C530 y C4751), que han sido asociados con suavidad de la carne (Page *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005). Los ensayos de discriminación alélica detectan SNP e involucran realizar la reacción en cadena de polimerasa (PCR) en presencia de dos sondas marcadas con dos fluoróforos diferentes (FAM y VIC). Los iniciadores y sondas fueron sintetizados en la Compañía Applied Biosystems, tomando como base las secuencias del gen CAPN1 reportadas en el GenBank (Accesos: AF248054, AF252504S1, AF252504S2). Cada ensayo, se realizó de forma indi-

vidual en placas ópticas de 96 pozos en un equipo de secuenciación (ABI Prism® 7000 Sequence Detection System), bajo las siguientes condiciones: un ciclo de 2 min a 50°C y 10 min a 95°C, seguido de 40 ciclos de dos pasos 15 s a 92°C y 1 min a 60°C. Se utilizaron 250 ng ADN, 12.5mL de Taqman PCR master mix (Applied Biosystems), y 0.625mL de la mezcla de sondas e iniciadores (Assay SNP mix). El análisis de cada genotipo fue llevado a cabo utilizando un paquete computacional (ABI Prism 7000 Real-Time Sequence Detection Software). Cada muestra fue verificada mediante análisis visual con el fin de eliminar falsos positivos. Después de asignar el genotipo de cada uno de los animales, se calcularon las frecuencias genotípicas, alélicas y haplotípicas, con el paquete computacional Arlequín Ver. 3.01 (Schneider *et al.*, 2000). El equilibrio de Hardy-Weinberg fue verificado mediante el programa Cervus Ver. 2.0 (Marshall *et al.*, 1998).

Resultados y Discusión

Frecuencias genotípicas y alélicas

La selección asistida por marcadores moleculares tiene gran potencial para mejorar características para las cuales la selección ha sido históricamente difícil, entre las cuales destaca la suavidad de la carne (White *et al.*, 2005). La información de los marcadores puede ser utilizada para incrementar la frecuencia del marcador que está asociado positivamente con la característica de interés, mediante la selección de animales portadores de copias del marcador favorable (Van Eenennaam, 2006). Sin embargo, es importante considerar que los resultados de asociación de dichos marcadores deben ser validados en poblaciones locales, ya que las asociaciones de marcadores de características de interés económico pueden ser erróneas o malinterpretadas si fueron desarrolladas en ganado *Bos taurus* y son empleadas en ganado *Bos indicus* (Casas *et al.*, 2005).

De acuerdo a la literatura (Page *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005), la presencia de la variante alélica C del marcador C316, en todas las poblaciones de ganado bovino, que han sido evaluadas, está consistentemente asociada a una reducción en la fuerza de corte Warner Bratzler (FCWB). En el presente estudio, la frecuencia de la variante alélica (C) favorable para este marcador (Cuadro 1), fue del 46%, resultado de la gran cantidad de heterocigotos encontrados (92%). Esto indica que, de ser validada su asociación a la suavidad de la carne en la población estudiada, el manejo reproductivo puede llevar a incrementar la frecuencia de animales con el genotipo

favorable en la población Brahman de registro de México, aspecto importante debido a la tendencia aditiva del marcador sobre la suavidad de la carne.

White *et al.*, (2005), reportaron una disminución significativa de 180 g en la FCWB a los 14 días *postmortem* en la población de Ciclo 8, que involucra cruzamientos con *Bos indicus*, de la evaluación de germoplasma del USDA, para los genotipos heterocigotos, y de una disminución de 550 g para el genotipo homocigoto con la variante alélica C.

El análisis con el marcador C530, mostró como genotipo más frecuente, con un 98%, al homocigoto para la variante alélica A (Cuadro 1), por lo que se puede considerar fija en la población. Resultados similares fueron reportados por Casas *et al.* (2005), encontrando que en ganado Brahman, la variante alélica normal (A) de este marcador se encuentra fija en la población, por lo que su utilización como auxiliar en la selección para suavidad de la carne no representaría resultados favorables.

Al igual que con el marcador C316, la presencia de la variante alélica favorable (C), en el marcador C4751, se ha asociado significativamente a una reducción de la FCWB, en las poblaciones del Ciclo 7 y 8 de la evaluación de germoplasma del USDA (White *et al.*, 2005). En la población Brahman estudiada, el 99% de los genotipos fueron heterocigotos, lo que indicó que la variante alélica catalogada como favorable (C), se encuentra con una frecuencia del 49% (Cuadro 1). White *et al.* (2005) encontraron una frecuencia alélica (C) del 10% de una población Brahman de

Cuadro 1. Frecuencia genotípica y alélica de tres marcadores polimórficos de un solo nucleótido del gen de la μ -calpaína, asociados con la suavidad de la carne

Marcador	Frecuencia genotípica			Frecuencia alélica	
C316	GG	CG	CC	G	C
	0.08	0.92	0.00	0.54	0.46
C530	AA	AG	GG	A	G
	0.98	0.02	0.00	0.99	0.01
C4751	TT	CT	CC	T	C
	0.01	0.99	0.00	0.51	0.49

Florida, provenientes de genotipos heterocigotos en su totalidad, sin embargo, en poblaciones de ganado del Ciclo 7 y 8 del programa de evaluación de germoplasma de Estados Unidos, encontraron que el alelo favorable mostró segregarse en muy alta frecuencia, 58 y 64%, respectivamente. Cabe mencionar que en este estudio, el efecto del genotipo (CT) en ganado Brahman fue de -400 g en la FCWB a los 14 días *postmortem* con respecto al Genotipo TT; incluso superior al efecto en los genotipos homocigotos (CC) del grupo Ciclo 7 y similar a los homocigotos del Ciclo 8.

En este sentido, estudios que involucren un diseño de mediciones con la metodología de FCWB, u otro método (p.e. fuerza de corte de rebanada; Smith *et al.*, 2003), en el ganado Brahman de las regiones tropicales donde se mantiene predominante esta raza, ayudarían a determinar exactamente el efecto que tienen estos marcadores no sinónimos en el fenotipo de la suavidad de la carne.

Por otro lado, para los tres marcadores la prueba de verificación genotípica fue significativa ($P < 0.05$), lo que sugiere que la segregación de los genotipos dentro de la población evaluada no se encuentra en equilibrio, pudiendo existir fuerzas que pudieran estar influenciando la mayor presencia de ciertos genotipos. Estos marcadores pudieran estar en desequilibrio de ligamiento con genes que está relacionados a ganancia de peso, ya que se sabe que están característica está positivamente asociada al desempeño posterior en el crecimiento del animal (Koots *et al.*, 1994). Asimismo, se ha reportado que caracteres de crecimiento se correlacionan de manera negativa con la FCWB (p.e. con Peso al destete -0.83, con Peso al nacimiento -0.01, y con Peso de la canal -0.37), lo que indicaría cierta asociación de estos caracteres (Koots *et al.*, 1994; Marshall 1999). Dean (2005), reportó para novillos de la raza Brahman, correlaciones genéticas entre el promedio de ganancia de peso y la FCWB a 7 y 14 días de maduración de -0.19, respectivamente; sugiriendo que los genes que influyen a mayores promedios de crecimiento también producen la carne más suave. El hallazgo de

correlaciones genéticas de -0.43 y -0.48 entre el peso de canal caliente y la fuerza de corte a 7 y 14 días de maduración, respectivamente, en este mismo estudio, robustece lo anteriormente mencionado (Dean, 2005).

Actualmente, en México, los criterios más comunes de selección, involucran además del patrón racial, las mayores ganancias de peso a edades estándar, destete, año y 550 días (AMCC, 1996), esto sugiere que indirectamente podrían estarse segregando conjuntamente alelos favorables para la suavidad, aunque sería necesario realizar estudios que corroboren esta aseveración.

Haplotipos para CAPN1

Los tres SNPs de CAPN1 han sido analizados en estudios previos (White *et al.*, 2005) como haplotipos, grupo s de alelos que son heredados como unidad (Van Eenennaam, 2006). En el presente estudio, se encontraron cuatro haplotipos (Cuadro 2). El haplotipo con las variantes alélicas GAT se presentó en mayor frecuencia (51%), seguido del haplotipo CAC con 45%. White *et al.* (2005) obtuvieron el haplotipo GAT en frecuencia de 19.8% y cuantificaron su efecto como promedio de FCWB a partir del cual los demás haplotipos mostraron efectos positivos sobre la suavidad de la carne, excepto para el haplotipo CGT, el cual no se presentó en la presente población analizada.

Es importante destacar la frecuencia observada para el haplotipo CAC, ya que si consideramos que el alelo A del marcador C530 se encuentra prácticamente fijo en la población Brahman, la principal influencia a la suavidad de la carne estaría dada por las variantes alélicas CC correspondientes a los marcadores C316 y C4751, en los cuales se probó por su alta frecuencia que existe evidencia de desequilibrio de ligamiento entre ellos. White *et al.* (2005) señalaron que la combinación CC, de acuerdo a contrastes entre las asociaciones del marcador C316 y C4751 mostraron las mejores desviaciones en la FCWB a los 14 días *postmortem* en poblaciones del Ciclo 7 y 8 del programa de evaluación de germoplasma de Estados Unidos. Esto sugiere que estos marcadores, en con-

Cuadro 2. Frecuencia de haplotipos de los marcadores C316, C530 y C4751 del gen de la *calpaína* en ganado Brahman de México.

Haplotipo	Frecuencia
GAT	0.50
GAC	0.04
CAC	0.45
CGC	0.01

junto, muestran un potencial para ser utilizados como auxiliares en la selección asistida.

Implicaciones del el uso de marcadores de CAPN1

De acuerdo a los resultados, se puede inferir que el uso de los marcadores C316 y C4751 puede ser de mucha utilidad para detectar la variación funcional que afecta la suavidad de la carne en poblaciones de ganado Brahman. Es importante señalar que según evidencia previa la variante alélica favorable del marcador C316, no segrega significativamente, en poblaciones de esta raza (Casas *et al.*, 2005; White *et al.*, 2005). Los presente resultados indicaron que en la población muestreada, el alelo se segrega en frecuencia importante y similar a la del marcador C4751, por lo que podría ser considerada informativa y útil en la selección.

En las regiones tropicales donde el aporte del ganado *Bos indicus*, y de la raza Brahman en particular, ha sido fundamental y donde este tipo de ganado es la base del componente genético tanto de manera pura como en cruzamientos con *Bos taurus* para sistemas de producción de carne o doble propósito (Hoogesteijn, 1999), esta evidencia puede ayudar a brindar valor agregado a su comercialización.

Las ventajas de ganado *Bos indicus* y sus cruces en regiones tropicales ha sido extensamente documentado (Turner, 1980; McDowell *et al.*, 1996; Hansen, 2004) y su uso extensivo para la producción de carne de manera pura o en cruces, o de leche, en sistemas de doble propósito aprovechando las ventajas de la heterosis (Cunningham y Syrstad, 1987), no puede prescindir de su uso. El ganado Brahman desde su creación a principios de los 1920 (Sanders, 1980) se ha venido consolidando como una raza de componente Cebú, pero que tiene influencia de vacas de razas continentales (Koch, 1999), en consecuencia, la variación genética para suavidad de la carne puede estar contenida en su constitución intrínseca como raza originalmente sintética.

Lo anterior cobra relevancia si se considera que, actualmente no existe información a nivel nacional que corrobore la aparente menor calidad de la carne del ganado Brahman y mucho menos de otras razas del tipo Cebú. Los estudios internacionales, comúnmente basan sus juicios de suavidad, en calificaciones de FCWB. Riley *et al.* (2003) reportaron para la carne de ganado Brahman, una media de 6.85, 6.31 y 5.53 kg en la FCWB a 7, 14 y 21 días *postmortem*, respectivamente. Huffman *et al.* (1996) indicaron que valores FCWB de 4.1 kg o menos producen un 98% de beneplácito en el consumo de cortes de carne. Sin embargo, la variación en la suavidad de la carne es muy amplia (Koohmaraie, 1996; Chacón, 2004), y difícilmente se explicaría completamente con la información obtenida por tres marcadores de un solo gen. Podría por tanto, ser necesaria la evaluación de otros *loci* candidatos que podrían tener una gran influencia en la característica en cuestión, en ganado Cebú, por ejemplo la *calpastatina* (Pringle *et al.*, 1997).

Conclusión

Se puede recapitular que las variantes alélicas favorables para suavidad de la carne de los marcadores C316 y el C4751 del gen CAPN1 son segregadas de manera importante en la población de ganado Brahman estudiada. Por lo tanto, estos pueden representar una herramienta para evaluaciones futuras y aplicación en la mejora genética asistida por marcadores de la población Brahman nacional, incluyendo a los criterios actuales de selección y evaluación genética (ganancia de peso), características

como la suavidad de la carne que podrían incentivar un nuevo mercado de consumo nacional e internacional.

Finalmente, la caracterización genético-molecular de los recursos genéticos locales puede ser una base para diseñar programas futuros de selección y para validar tecnología previamente desarrollada, con lo que se reducen los costos y tiempo de diseño experimental.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú y a los Fondos Sectoriales SAGARPA-CONACyT, por el

apoyo financiero para llevar a cabo el proyecto de investigación a través del convenio: SAGARPA-2002-C01-0316, del cual se derivó este trabajo.

Literatura Citada

- AMCC. 1996. Reglamento técnico del control de desarrollo ponderal. Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas. p. 72.
- Casas, E., S.N. White, D.G. Riley, T.P.L. Smith, R.A. Brennenman, T.A. Olson, D.D. Johnson, S.W. Coleman, G.L. Bennett and C.C. Chase Jr. 2005. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. *J. Anim. Sci.* 83:13-19.
- Casas, E. 2006. Aplicación de la genómica para identificar genes que influyen sobre características económicamente importantes en animales. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 14:24-31.
- Chacón, A. 2004. La suavidad de la carne: implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. *Agron. Mesoam.* 15:225-243.
- Cunningham, E.P. and O. Syrstad. 1987. Crossbreeding *Bos indicus* and *Bos taurus* for milk production in the tropics. FAO, Animal Production and Health Paper, No. 68, Rome, Italy. 90 p.
- Dean, D.J. 2005. Genetic (Co)variance for growth and tenderness related traits in purebred Brahman steers. MsC. Thesis. Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College. p. 49.
- Hansen, P.J. 2004. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science* 82-83:349-360.
- Hoogesteijn, R. 1999. ¿Por qué el Cebú para regiones tropicales? En: En: La Cátedra del Cebú: 1º Ciclo de Conferencia Raza Brahman. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Guanare, Venezuela. ASOCEBU 25 y 26 de Junio 1(1):67.
- Huffman, K.L., M.F. Miller, L.C. Hoover, C.K. Wu, H.C. Brittin and C.B. Ramsey. 1996. Effect of Beef Tenderness on Consumer Satisfaction with Steaks Consumed in the Home and Restaurant. *J. Anim. Sci.* 74:91-97
- Koch, B.H.R. 1999. Características raciales de la raza Brahman en Venezuela. En: La Cátedra del Cebú: 1º Ciclo de Conferencia Raza Brahman. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Guanare, Venezuela. ASOCEBU; 25 y 26 de Junio. 1(1):19.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. *Meat Sci.* 43:193-201.
- Koots, K.R., J.P. Gibson and J.W. Wilton. 1994. Analysis of published genetic parameter estimates for beef production traits. 2. phenotypic and genetic correlations. *Anim. Breed. Abstr.* 62:825-853.
- Marshall, T.C., J. Slate, L. Kruuk, and J.M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7:639-655.
- Marshall, D.M. 1999. The genetics of meat quality. In: R. Fries and A. Rubinsky eds. *The Genetics of Cattle*. CABI Publishing. pp.605-635
- Martínez, G.J.C. 1999. Tendencias fenotípicas, genéticas y ambientales de características de crecimiento en el ganado Cebú. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas. México. 119 p.
- McDowell, R.E., J.C. Wilk and C.W. Talbott. 1996. Economic viability of crosses of *Bos taurus* and *Bos indicus* for dairying in warm climates. *J. Dairy Sci.* 79: 1292.1203.
- Mintert, J., J.L. Lusk, T.C. Schroeder, J.A. Fox and M. Koohmaraie. 2000. Valuing beef tenderness. Department of Agricultural Economics, Kansas City University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. Paper MF-2464 Beef Marketing. May. p.4.
- Odeh, F.M.T. 2003. Quantitative inheritance of Calpastatin activity as an assessment measure for meat tenderness in Brahman steers. Ph.D. Dissertation. Louisiana State University, Agricultural and Mechanical College. p. 80.
- 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. 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. 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.
- Pringle, T.D., S.E. Williams, B.S. Lamb, D.D. Johnson and R.L. West. 1997. Carcass characteristics, the calpain proteinase system, and aged tenderness of Angus and Brahman crossbred steers. *J. Anim. Sci.* 75:2955-296.
- Promega. 2002. Technical manual: Wizard® Genomic DNA Purification Kit. p.16.
- Riley, D.G., C.C. Chase Jr., T.D. Pringle, R.L. West, D.D. Johnson, T.A. Olson, A.C. Hammond and S.W. Coleman. 2003. Effect of sire on μ and m-calpain activity and rate of tenderization as indicated by myofibril fragmentation indices of steaks from Brahman cattle. *J. Anim. Sci.* 81:2440-2447
- Sanders, J.O. 1980. History and development of Zebu cattle in the United States. *J. Anim. Sci.* 50:1188-1200.
- Schneider, S., D. Roessli and L. Excoffier. 2000. Arlequin version 2000. A software for population genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. Disponible en <http://anthro.unige.ch/arlequin>.
- 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 quantitative trait locus for meat tenderness. *J. Anim. Sci.* 78:2589-2594
- Smith, T.P.L., R.M. Thallman, E. Casas, S.D. Shackelford, T.L. Wheeler and M. Koohmaraie. 2003. Theory and application of genome-based approaches to improve the quality and value of beef. *Outlook Agric.* 32:253-265.
- Turner, J.W. 1980. Genetic and biological aspects of Zebu adaptability. *J. Anim. Sci.* 50: 1201-1205.
- Van Eenennaam, A. 2006. Marker assisted selection in beef cattle. *Enero.* 2p. Disponible en <http://animalscience.ucdavis.edu/animalbiotech>.
- White, S.N., E. Casas, T.L. Wheeler, S.D. Shackelford, M. Koohmaraie, D.G. Riley, C.C. Chase, D.D. Johnson, J.W. Keele and T.P.L. Smith. 2005. A new single nucleotide polymorphism in *CAPN1* extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *J. Anim. Sci.* 83:2001-2008.