

## Artículo de investigación

**Genetic variability in six SNPs of CAPN1, CAST and LEP genes of brahman bulls in cattle farms on colombian tropical lowlands***Variabilidad genética en seis SNPs de los genes CAPN1, CAST y LEP de toros brahman en ganaderías del trópico bajo colombiano**Variabilidade genética em seis SNPs dos genes CAPN1, CAST e LEP de touros brahman em baixo trópico colombiano*Luis Ernesto López Rojas<sup>1,3</sup>✉, BSc, MSc, cPhD, [CVLAC](#); Laura Patiño-Cadavid<sup>2</sup>, BSc, cMSc, [CVLAC](#); Albeiro López Herrera<sup>3</sup>, MV, Zoot, MSc, PhD, [CVLAC](#); José Julián Echeverri Zuluaga<sup>3</sup>, [CVLAC](#)**Fecha correspondencia:**

Recibido: 6 de marzo de 2017.

Aceptado: 18 de julio de 2017.

**Forma de citar:**

López Rojas LE, Patiño-Cadavid L, López Herrera A, Echeverri Zuluaga JJ. Variabilidad genética en seis SNPs de los genes CAPN1, CAST y LEP de toros brahman en ganaderías del trópico bajo colombiano. Rev. CES Med. Vet. Zoot. Volumen 12 (2): 88-102.

**Open access**

© Copyright

[Creative commons](#)[Ethics of publications](#)[Peer review](#)[Open Journal System](#)DOI: [http://dx.doi.org/10.21615/](http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.12.2.2)[cesmvz.12.2.2](#)

ISSN 1900-9607

Comparte

**Abstract**

The CAPN1 and CAST genes encodes  $\mu$ -calpain and calpastatin, both genes participate on degradation of muscle fibers after rigor mortis; in addition the LEP gene codes for leptin, which regulates the fat deposition in muscle. These genes shows SNPs related to tenderness and juiciness of meat and productive characteristics of the carcass. In order to know the genetic potential of Brahman cattle the CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, E2FB and E2JW SNPs were genotyped by PCR-HRM in 270 Brahman males from four different geographical areas, also the study of differentiation of population structure was made.

There was no difference ( $p > 0.05$ ) in genotype and allele frequencies of these markers between subpopulations, the genotypic frequencies in the general population were: CAPN316 (CG = 0.078, GG = 0.922), CAPN4751 (CC = 0.289, CT = 0.104, TT = 0.606), CAST282 (CC = 0.285, CG = 0.448, GG = 0.267), CAST2959 (AA = 0.400, AG = 0.370, GG = 0.230), E2FB (CC = 0.633, CT = 0.356, TT = 0.011) and E2JW (AA = 0.985, AT = 0.010, TT = 0.004). The CAPN316, CAST282 and E2JW markers were found in HWE ( $p > 0.05$ ), while CAPN4751 and CAST2959 showed  $H_o < H_e$  and in E2FB  $H_o > H_e$ . The F statistics values were:  $F_{IS} = 0.153$ ,  $F_{IT} = 0.157$  and  $F_{ST} = 0.005$ .

Was conclude that the Brahman herds studied present a slight degree of inbreeding and constitute a single population; all markers evaluated are polymorphic, except for E2JW, however the production of more tender and juicy meats could be possible, because the associated alleles with this characteristics were founds although in low frequencies.

**Keywords:** CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, juicy, LEPE2FB, LEPE2JW, tenderness.

**Resumen**

Los genes CAPN1 y CAST codifican la  $\mu$ -calpaína y la calpastatina, las cuales participan en la degradación de las fibras musculares luego del rigor

**Filiación:**

<sup>1</sup>Grupo Medicina Tropical, Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Sabaneta, Colombia, Carrera 43 A No. 52 sur 99, Sabaneta, Colombia.

<sup>2</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias y Biotecnología, Universidad CES, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup>Grupo Biodiversidad y Genética Molecular "BIOGEM", Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

mortis, además, el gen LEP codifica a la leptina, una hormona que regula la deposición de grasa en el músculo. Éstos genes presentan SNPs relacionados con la terneza y la jugosidad de la carne y con características de la canal. Con el fin de conocer el potencial genético de la raza Brahman, se genotipificaron los SNPs CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, E2FB y E2JW mediante PCR-HRM en 270 machos de ganaderías de cuatro regiones y se hizo un estudio de estructura y diferenciación poblacional.

No hubo diferencia ( $p > 0,05$ ) en las frecuencias alélicas y genotípicas de los marcadores evaluados entre las subpoblaciones, las frecuencias genotípicas en la población general fueron: CAPN316 (CG = 0,078, GG = 0,922), CAPN4751 (CC = 0,289, CT = 0,104, TT = 0,606), CAST282 (CC = 0,285, CG = 0,448, GG = 0,267), CAST2959 (AA = 0,400, AG = 0,370, GG = 0,230), E2FB (CC = 0,633, CT = 0,356, TT = 0,011) y E2JW (AA = 0,985, AT = 0,010, TT = 0,004). Los marcadores CAPN316, CAST282 y E2JW se encontraron en HWE ( $p > 0,05$ ), mientras que CAPN4751 y CAST2959 presentaron  $H_o < H_e$  y en E2FB  $H_o > H_e$ . Los valores de los estadísticos F fueron:  $F_{IS} = 0,153$ ,  $F_{IT} = 0,157$  y  $F_{ST} = 0,005$ .

De lo anterior se deduce que las ganaderías Brahman estudiadas presentan un leve grado de endogamia y constituyen una sola población, todos los marcadores evaluados son polimórficos, excepto E2JW, sin embargo existe la posibilidad de producir carne más tierna y jugosa debido a que aunque con frecuencias muy bajas, se pueden encontrar animales portadores de todos los alelos asociados.

**Palabras clave:** CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, jugosidad, LEPE2FB, LEPE2JW, Terneza.

**Resumo**

Os genes CAPN1 e CAST codificam  $\mu$ -calpaína e calpastatina, que participam da degradação das fibras musculares após o rigor mortis, além disso, o gene LEP codifica a leptina, um hormônio que regula a deposição de gordura no músculo. Estes genes apresentam SNPs relacionados à ternura e suco de carne e com características do canal. Para conhecer o potencial genético da raça Brahman, os SNPs CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, E2FB e E2JW foram genotipados por PCR-HRM em 270 homens de quatro regiões e um estudo sobre a estrutura e diferenciação da população.

Não houve diferenças ( $p > 0,05$ ) nas frequências alélicas e genotípicas dos marcadores avaliados entre as subpopulações, as frequências genotípicas na população geral foram: CAPN316 (CG = 0,078, GG = 0,922), CAPN4751 (CC = 0,289, CT = 0,104, TT = 0,606), CAST282 (CC = 0,285, CG = 0,448, GG = 0,267), CAST2959 (AA = 0,400, AG = 0,370, GG = 0,230), E2FB (CC = 0,633, CT = 0,356, TT = 0,011) e E2JW (AA = 0,985, AT = 0,010, TT = 0,004). Os marcadores CAPN316, CAST282 e E2JW foram encontrados em HWE ( $p > 0,05$ ), enquanto CAPN4751 e CAST2959 mostraram  $H_o < H_e$  e em E2FB  $H_o > H_e$ . Os valores das estatísticas F foram:  $F_{IS} = 0,153$ ,  $F_{IT} = 0,157$  e  $F_{ST} = 0,005$ . A partir do acima, deduz-se que os rebanhos de Brahman estudaram apresentar um ligeiro grau de endogamia e constituem uma população única, todos os marcadores avaliados são polimórficos, exceto E2JW, porém existe a possibilidade de produzir carne mais suave e succulenta porque, embora com frequências muito baixo, podem ser encontrados animais que transportam todos os alelos associados.

**Palabras-chave:** CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, EPE2FB, LEPE2JW, succulento, ternura.

## Introducción

La ganadería colombiana está constituida en un alto porcentaje por individuos de la subespecie *Bos indicus* (Novoa y Usaqué, 2010; Gómez *et al.*, 2013) de la raza brahman, la cual llegó a Colombia a principios del siglo pasado (Rodríguez, 1993). Ésta es producto del cruce de las razas taurinas shorthorn y las cebuinas indubrasil, gyr y guzerá, sin embargo la mayoría de sus características fenotípicas (Rodríguez, 1993) y genéticas (Meirelles *et al.* 1999) corresponden a las cebuinas, dando lugar a los ganados brahman blanco y rojo (Sanders, 1980). Debido a sus características de rusticidad, los animales brahman se han adaptado a las condiciones ambientales del trópico bajo y a diferentes topografías en toda la geografía nacional, con un sinnúmero de ventajas comparativas frente a las razas de la subespecie *Bos taurus* (Vásquez *et al.*, 2005), sin embargo, la carne de los animales brahman es menos tierna y jugosa (Wheeler *et al.*, 1994).

La terneza es el parámetro más valorado por los consumidores de carne, y se sabe que es afectada por múltiples factores inherentes al ambiente o la genética del animal (Carragher *et al.*, 2002, Warner *et al.*, 2010). Desde el punto de vista genético se han descrito gran cantidad de parámetros que influyen en la terneza, los más importantes son los genes del complejo de la calpaína (CAPN) y su regulador la calpastatina (CAST), que están relacionados con el proceso de proteólisis de las fibras musculares durante la maduración de la carne, en los que se han descrito algunos alelos relacionadas con una mayor terneza (Carragher *et al.*, 2002).

El gen CAPN1 (GenBank No. AF248054) codifica la enzima  $\mu$ -calpaína, está localizado en el cromosoma 29 y porta varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). El SNP CAPN316 (AF252504:g.5709C>G) es una transición C/G en el exón 9 que produce el cambio de alanina por glicina en la enzima (Page *et al.*, 2002) y CAPN4751 (AF248054:g.6545C>T) es el producto de transición C/T en el intrón 17 (White *et al.*, 2005). En ambos casos el alelo C ha sido asociado con una mayor terneza (Page *et al.*, 2002; White *et al.*, 2005). El gen CAST (GenBank No. AY008267) está localizado en el cromosoma 7, posee varios SNPs. UOGCAST ó CAST282 (AY008267:g.282C>G) es una transversión C/G en el intrón 5 (Schenkel *et al.*, 2006) y CAST2959 (AF159246:g.2959G>A) es una transición A/G en el exón 3, ubicado en el extremo 3' no traducido (UTR) (Morris *et al.*, 2006). Los alelos C (Schenkel *et al.*, 2006) y A (Morris *et al.*, 2006) respectivamente, están asociados con una mayor terneza.

De igual manera el gen LEP u obeso (GenBank No. U50365) ubicado en el cromosoma 4, codifica para la leptina, una hormona que regula el apetito de los animales, el balance energético, el crecimiento, el depósito de grasa e influye en las características de la canal (Clarke y Henry, 1999, Houseknecht *et al.*, 1998; Mácajová *et al.*, 2004). El gen LEP porta algunos SNPs con variantes alélicas que favorecen el marmóreo, y este a su vez está íntimamente relacionado con la terneza (Schenkel *et al.*, 2005). EL SNP E2FB (AY138588:g.305C>T) es la transición C/T ubicada en el exón 2 (Buchanan *et al.*, 2002) y E2JW (AY138588:g.252A>T) es una transversión A/T ubicada en el exón 2 (Lagonigro *et al.*, 2003). El alelo T de ambos polimorfismos se ha asociado a mayores porcentajes de grasa intramuscular (Buchanan *et al.*, 2002; Lagonigro *et al.*, 2003, Schenkel *et al.*, 2005).

Con el fin de corroborar las bondades del ganado Brahman de la ganadería colombiana y establecer las bases para un programa de selección asistida por marcadores, el objetivo de este trabajo fue estimar las frecuencias alélicas y genotípicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg, la estructura de la población y flujo genético para los SNPs CAPN316, CAPN4761, CAST282, CAST2959, E2FB y E2JW en ganado brahman comercial.

## Metodología

### Aval de ética y población de estudio

Con el aval del comité institucional para el uso y cuidado de los animales (CICUA) de la Universidad CES (acta número 5 de agosto 20 de 2013, proyecto 38), se evaluaron 270 machos brahman de los municipios de Puerto Berrío (n=29) en el Magdalena Medio Antioqueño (N:6.27.41 O:74.26.16, 107 msnm, 28,5 °C en promedio), Montería (n=86) en el Valle del río Sinú (N:08.33.45 O:76.00.87, 50 msnm, 28,1 °C en promedio) y Pueblo Nuevo (n=73) en la región del Alto San Jorge (N:8.26.45 O:75.19.59, 10 msnm, 27,8 °C en promedio) de Córdoba y en San Marcos (n=82) ubicado en la Depresión Momposina (N:8.37.22 O:75.16.57, 60 msnm, 27,8 °C en promedio) en el departamento de Sucre.

### Genotipificación

De cada animal se extrajo el DNA genómico a partir de sangre periférica y se genotipificaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa y el análisis de alta resolución en la temperatura de disociación (PCR-HRM), usando los cebadores específicos para los SNPs CAPN316 (F-5`TAGAGGCTGGGCAGG TCAGT3` y R-5`CATCTTGACC-CGGAGCTGCT3`) (López *et al.*, 2016), CAPN4751 (F-5`CTCTGGGTGACCTGCCTAAGA3` y R-5`TCCCCCGTCACTTGACAC3`), CAST282 (F-5`TGGCATCAGCAGGTACTGC3` y R-5`TTGTGTTTTATGTAGTCA ATTGTGAGA 3`), CAST2959 (F-5`GAAAACGATGCCTCAGGTGT3` y R-5`TGTG CCCAATGCACAGTATT3`), E2FB (F-5`CGGGAAGGAAAATGCACTG3` y R-5`CTACCGTGTGTGAGATGTCATTG3`) y E2JW (F-5`GTGTTCTCGGAGATCGATGAT G3` y R-5`CGTAAGACAGATAGGGCCAAAG3`) (López *et al.*, 2017).

### Análisis de la estructura y diferenciación poblacional

Utilizando el software GenAlEx (Peakal y Smouse, 2012) se calcularon las frecuencias alélicas para cada subpoblación y la población general usando las formulas  $f_A = N_A / 2N$  y  $f_a = N_a / 2N$ , donde N es el número de individuos en la población,  $N_A$  y  $N_a$  el número de alelos A y a. Para calcular las frecuencias genotípicas se utilizaron las formulas  $f_{AA} = N_{AA} / N$ ,  $f_{Aa} = N_{Aa} / N$  y  $f_{aa} = N_{aa} / N$ , donde  $N_{AA}$ ,  $N_{Aa}$  y  $N_{aa}$  son el número de copias de los genotipos AA, Aa y aa. Además se determinó el estado de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) comparando las frecuencias alélicas y genotípicas observadas y esperadas, se estableció la diversidad genética, definida como la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) bajo condiciones HWE, y se determinó la diferenciación genética comparando la heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y  $H_e$ .

La estructura poblacional se evaluó mediante el análisis de varianza molecular (amova) usando el coeficiente de diferenciación genética entre las subpoblaciones ( $F_{ST} = (H_T - H_e) / H_T$ ), el coeficiente de endogamia en las subpoblaciones ( $F_{IS} = (H_e - H_o) / H_e$ ) y el coeficiente de endogamia total ( $F_{IT} = (H_T - H_o) / H_T$ ), donde  $H_o$  y  $H_e$  son la heterocigosidad observada y esperada entre las subpoblaciones y  $H_T$  es la heterocigosidad total esperada. Se determinó el flujo genético expresado como el número de migrantes ( $Nm = [(1/F_{ST} - 1) / 4]$ ) y se calculó el coeficiente de desequilibrio de ligamiento ( $D_{AB} = f_{AB} - f_A f_B$ ), donde  $f_{AB}$  es la frecuencia de la combinación de alelos AB, mientras que  $f_A$  y  $f_B$  son las frecuencias de los alelos de A y B (Peakal y Smouse, 2012).

## Resultados

### Frecuencias alélicas y genotípicas

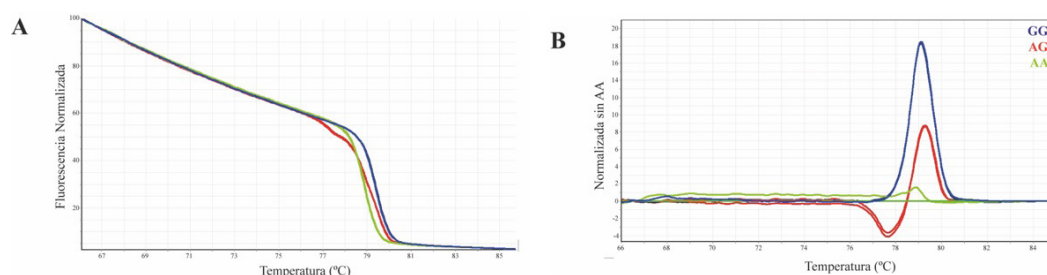
Se obtuvieron los productos de PCR del tamaño esperado para cada marcador (López *et al.*, 2017), lo anterior fue corroborado por electroforesis en gel de agarosa

o la presencia de un solo perfil en la curva de disociación generada por la variación de la fluorescencia en función de la temperatura, que además es específico para cada genotipo, comparando con muestras de genotipo conocido usadas como control, lo cual permitió la genotipificación de cada uno de los SNPs estudiados, utilizando la técnica de PCR-HRM. A manera de ejemplo se muestran los perfiles de disociación (Figura 1A) y los perfiles normalizados (Figura 1B) de los genotipos AA, AG y GG del SNP CAST2959.

En la tabla 1 se resumen las frecuencias alélicas y genotípicas de los marcadores estudiados y al comparar sus frecuencias entre las subpoblaciones, no se encontraron diferencias ( $p > 0,05$ ). En la población general se evidencia baja frecuencia de los alelos C de CAPN316 (0,039), T de E2FB (0,189) y E2JW (0,009), los cuales han sido asociados con la producción carnes más tiernas y jugosas, mientras que las frecuencias genotípicas fueron: CAPN316 (CG = 0,078, GG = 0,922), CAPN4751 (CC = 0,289, CT = 0,104, TT = 0,606), CAST282 (CC = 0,285, CG = 0,448, GG = 0,267), CAST2959 (AA = 0,400, AG = 0,370, GG = 0,230), E2FB (CC = 0,633, CT = 0,356, TT = 0,011) y E2JW (AA = 0,985, AT = 0,010, TT = 0,004).

### Equilibrio de Hardy-Weinberg

En la tabla 2 se muestran los valores de  $H_o$ ,  $H_e$  y el valor de significancia de HWE de cada SNP en las subpoblaciones y en la población general. En la población general no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre  $H_o$  y  $H_e$  para los SNPs CAPN316, CAST282 y E2JW, mientras que si se observó ( $p < 0,05$ ) para CAPN4751, CAST2959 y E2FB (Tabla 2). No se encontraron en HWE ( $p < 0,05$ ) los SNP CAPN4751 en ninguna subpoblación, de manera similar CAST2959 y E2JW en Puerto Berrío y CAST2959 y E2FB en Pueblo Nuevo.



**Figura 1.** Genotipificación del SNP CAST2959: Perfil de HRM (A), (B), Perfil de HRM normalizada con el genotipo AA

**Tabla 1.** Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs CAPN316 y CAPN4751, CAST282 y CAST2959, E2FB y E2JW en las subpoblaciones de Puerto Berrío (Antioquia), San Marcos (Sucre), Montería y Pueblo Nuevo (Córdoba).

SNP	Genotipos	Alelos	Puerto Berrío	San Marcos	Montería	Pueblo Nuevo	General
CAPN316	CC		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	CG		0,069	0,049	0,116	0,068	0,078
	GG		0,931	0,951	0,884	0,932	0,922
		C	0,035	0,024	0,058	0,034	0,039
		G	0,966	0,976	0,942	0,966	0,961
CAPN4751	CC		0,345	0,341	0,244	0,260	0,289
	CT		0,034	0,049	0,198	0,082	0,104
	TT		0,621	0,610	0,558	0,658	0,607
		C	0,362	0,366	0,343	0,301	0,341
		T	0,638	0,634	0,657	0,699	0,659

SNP	Genotipos	Alelos	Puerto Berrío	San Marcos	Montería	Pueblo Nuevo	General
CAST282	CC		0,276	0,244	0,337	0,274	0,285
	CG		0,517	0,451	0,453	0,411	0,448
	GG		0,207	0,305	0,209	0,315	0,267
		C	0,535	0,470	0,564	0,480	0,509
		G	0,466	0,531	0,436	0,521	0,491
CAST2959	AA		0,483	0,293	0,442	0,438	0,400
	AG		0,276	0,451	0,395	0,288	0,370
	GG		0,241	0,256	0,163	0,274	0,230
		A	0,621	0,518	0,640	0,582	0,585
		G	0,379	0,482	0,361	0,418	0,415
E2FB	CC		0,690	0,646	0,628	0,603	0,633
	CT		0,310	0,341	0,349	0,397	0,356
	TT		0,000	0,012	0,023	0,000	0,011
		C	0,845	0,817	0,802	0,801	0,811
		T	0,155	0,183	0,198	0,199	0,189
E2JW	AA		1,000	0,988	0,988	0,973	0,985
	AT		0,000	0,012	0,012	0,014	0,011
	TT		0,000	0,000	0,000	0,014	0,004
		A	1,000	0,994	0,994	0,980	0,991
		T	0,000	0,006	0,006	0,021	0,009

**Tabla 2.** Heterocigidad observada (Ho) y esperada (He) y valor de significancia de HWE (P Valor).

Subpoblaciones	SNP	Ho	He	Valor P
Puerto Berrío	CAPN4316	0,069	0,067	0,847
	CAPN4751	0,034	0,462	0,000
	CAST282	0,517	0,498	0,832
	CAST2959	0,276	0,471	0,026
	E2FB	0,310	0,262	0,323
	E2JW	0,000	1,000	N/A
	Media		0,201	0,293
San Marcos	CAPN4316	0,049	0,048	0,821
	CAPN4751	0,049	0,464	0,000
	CAST282	0,451	0,498	0,394
	CAST2959	0,451	0,499	0,383
	E2FB	0,341	0,299	0,198
	E2JW	0,012	0,012	0,955
	Media		0,226	0,303
Montería	CAPN4316	0,116	0,110	0,567
	CAPN4751	0,198	0,451	0,000
	CAST282	0,453	0,492	0,470
	CAST2959	0,395	0,461	0,186
	E2FB	0,349	0,317	0,355
	E2JW	0,012	0,012	0,957
	Media		0,254	0,307
Pueblo Nuevo	CAPN4316	0,068	0,066	0,731
	CAPN4751	0,082	0,421	0,000
	CAST282	0,411	0,499	0,123
	CAST2959	0,288	0,486	0,000
	E2FB	0,397	0,318	0,034
	E2JW	0,027	0,027	0,906
	Media		0,212	0,303
General	CAPN4316	0,076	0,072	0,506
	CAPN4751	0,091	0,449	0,000
	CAST282	0,458	0,497	0,089
	CAST2959	0,353	0,479	0,000
	E2FB	0,349	0,299	0,008
	E2JW	0,013	0,013	0,902
	Media		0,223	0,302

### Desequilibrio de ligamiento

En la [tabla 3](#) se muestran las combinaciones de genotipos de los SNPs encontrados en la población de ganado Brahman estudiada, la más frecuente fue GGTCCAACCAA (0,070), portadora de cuatro alelos que favorecen la ternera y el marmóreo de la carne, seguida de GGTGGGGCAA (0,063), la cual no porta ningún alelo favorable. Dentro de los menos frecuentes se encuentran las portadoras de 6, 7 y 8 alelos favorables ([Tabla 3](#)). Los valores de  $D$  y  $r^2$  por población fueron diferentes de cero ( $p < 0,05$ ) para las combinaciones de SNPs CAPN316/CAPN4751 y CAST282/CAST2958. Las demás combinaciones no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) ([Tabla 6](#)), por lo que se espera que los alelos de cada locus segreguen de manera independiente.

### Estructura genética

Se observó poca diferenciación genética entre las subpoblaciones dado que el valor del estadístico medio  $F_{ST} = 0,005$  ( $p = 0,953$ ), además el valor de  $F_{IT} = 0,157$  ( $p = 0,001$ ) sugiere una tendencia baja a la endogamia entre las subpoblaciones, y dentro de las subpoblaciones, donde el valor de  $F_{IS} = 0,153$  ( $p = 0,001$ ) ([Tabla 3](#)).

### Flujo genético y diferenciación genética

La media en el número de migrantes  $Nm = 66,937$  ([Tabla 3](#)) sugiere un alto flujo de individuos o gametos entre las subpoblaciones por cada generación, promoviendo el intercambio genético entre éstas, lo cual explica la baja diferenciación genética de las subpoblaciones estudiadas, evidenciado en que los  $F_{ST}$  pareados presentaron poca variación, cuyos valores oscilan entre 0,001 y 0,007 ([Tabla 4](#)) y no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 3.** Estadísticos F de Wright, coeficiente de endogamia en las poblaciones ( $F_{IS}$ ), coeficiente de endogamia total ( $F_{IT}$ ), coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones ( $F_{ST}$ ) y número de migrantes ( $Nm$ ).

SNP	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$Nm$
CAPN4316	-0,044	-0,039	0,004	58,706
CAPN4751	0,798	0,799	0,003	85,805
CAST282	0,077	0,083	0,006	40,919
CAST2959	0,265	0,271	0,009	27,880
E2FB	-0,168	-0,166	0,002	121,359
E2JW	-0,010	-0,006	0,004	66,951
Media	0,153	0,157	0,005	66,937
SE	0,142	0,141	0,001	13,648

**Tabla 4.** Matrix pareada de poblaciones de los valores de  $F_{ST}$ , debajo de la diagonal se presentan los valores de  $F_{ST}$  y sobre la diagonal se muestra la probabilidad (P) (azar  $\geq$  dato) basado en 999 permutaciones.

	Puerto Berrío	San Marcos	Montería	Pueblo Nuevo
Puerto Berrío	-	0,646	0,969	0,829
San Marcos	0,004	-	0,122	0,673
Montería	0,001	0,007	-	0,458
Pueblo Nuevo	0,003	0,002	0,003	-

**Tabla 5.** Frecuencia de las combinaciones de genotipos de los SNPs CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959, E2FB y E2JW (F) y número de alelos favorables (AF) para la terneza y marmoreo de la carne de bovino.

	<b>Genotipos</b>	<b>F</b>	<b>AF</b>		<b>Genotipos</b>	<b>F</b>	<b>AF</b>		<b>Genotipos</b>	<b>F</b>	<b>AF</b>
1	GGTTGGGGCCAA	0,063	0	22	GGTTCGAGCTAA	0,063	3	43	GGCTCCAACCAA	0,007	5
2	CGTTGGGGCCAA	0,004	1	23	GGTTCGAGCTAA	0,063	3	44	GGCCGGAACCTAA	0,007	5
3	GGCTGGGGCCAA	0,007	1	24	GGCTGGAGTTAA	0,004	4	45	GGCCCCAGCCAA	0,007	5
4	GGTTCGGGCCAA	0,022	1	25	GGCCGGAACCAA	0,004	4	46	CGCCCGGGCTAA	0,007	5
5	GGTTGGGGCTAA	0,026	1	26	GGCCCCGGCCAA	0,004	4	47	CGCCCCAGCCAA	0,007	5
6	GGTTGGAGCCAA	0,044	1	27	CGTTCCAGCCAA	0,004	4	48	GGCCCCGAACCAA	0,019	5
7	GGTTCCGGCCAA	0,004	2	28	CGCTGGAACCAA	0,004	4	49	GGTTCCAACCTAA	0,022	5
8	GGCCGGGGCCAA	0,004	2	29	CGCTCGAGCCAA	0,004	4	50	GGCCCCGAGCTAA	0,026	5
9	GGCTCGGGCCAA	0,007	2	30	CGCCGGGGCTAA	0,004	4	51	GGTTCCAATTAA	0,004	6
10	GGCTGGAGCCAA	0,011	2	31	GGTTCAACCAT	0,007	4	52	CGCTCCAACCAA	0,004	6
11	GGTTGGAGCTAA	0,015	2	32	GGCTCGAACCAA	0,011	4	53	CGCCCCGAACCAA	0,004	6
12	GGCCGGGGCCAA	0,015	2	33	GGTTCCAGCTAA	0,015	4	54	CGCCCCGGCTAA	0,004	6
13	GGTTGGAACCAA	0,026	2	34	GGTTGGAACCAT	0,030	4	55	GGCTCCAACCTAA	0,011	6
14	GGTTCGGGCTAA	0,026	2	35	GGCCCGGGCTAA	0,030	4	56	GGCCCCAGCTAA	0,015	6
15	GGTTCGGGCTAA	0,059	2	36	GGTTCCAACCAA	0,070	4	57	GGCCCCGAACCTAA	0,022	6
16	GGTTGGGGCTTT	0,004	3	37	GGCTCGAACCTAA	0,004	5	58	GGCCCCAACCAA	0,037	6
17	GGCCGGGGCTAA	0,011	3	38	GGCTCGAACCTAA	0,004	5	59	CGTTCCAATTAA	0,004	7
18	GGCCGGAGCCAA	0,011	3	39	CGTTCCAGCTAA	0,004	5	60	GGCCCCAACCTAA	0,019	7
19	GGCCGGGGCCAA	0,015	3	40	CGCTCGAACCAA	0,004	5	61	CGCCCCAACCTAA	0,015	8
20	GGCTCGAGCCAA	0,019	3	41	CGCTCCAGCCAA	0,004	5				
21	GGTTCCAGCCAA	0,030	3	42	CGCCGGAACCAA	0,004	5				

**Tabla 6.** Equilibrio ligamiento entre los diferentes pares de SNPs.

<b>Pares de SNP</b>	<b>Valor P</b>
CAPN316/CAPN4751	0,004
CAPN316/CAST282	0,880
CAPN316/CAST2959	0,647
CAPN316/E2FB	0,569
CAPN316/E2JW	1,000
CAPN4751/CAST282	0,181
CAPN4751/CAST2959	0,200
CAPN4751/E2FB	0,071
CAPN4751/E2JW	1,000
CAST282/CAST2959	0,000
CAST282/E2FB	0,070
CAST282/E2JW	0,745
CAST2959/E2FB	0,416
CAST2959/E2JW	0,747
LEPE2FB/E2JW	0,824

## Discusión

Los alelos C de CAPN316, CAPN4751 y CAST282 y el alelo A de CAST2959 han sido asociados con la producción de carnes más tiernas ([Morris \*et al.\*, 2006](#), [Page \*et al.\*, 2002](#), [Schenkel \*et al.\*, 2006](#), [White \*et al.\*, 2005](#)), mientras que los alelos de T de E2FB y E2JW están relacionados con mayor marmoreo ([Buchanan \*et al.\*, 2002](#); [Lagonigro \*et al.\*, 2003](#), [Schenkel \*et al.\*, 2005](#)). En la población estudiada, la frecuencia de éstos alelos es baja, excepto la de C de CAST282 y A de CAST2959 ([Tabla 1](#)). No obstante, los resultados muestran que los marcadores CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959 y E2FB en ganado Brahman son polimórficos, puesto que sus alelos no están fijados y sus frecuencias son superiores a 0,010 ([Tabla 1](#)).



Al comparar las frecuencias genotípicas obtenidas, no se encontró diferencia entre las subpoblaciones ( $p > 0,05$ ), además, los resultados son comparables con los obtenidos en los estudios realizados en ganado de la raza Brahman en Colombia (Cueitia, 2012, Castro, 2013), Australia (Cafe *et al.*, 2010), Estados Unidos (Smith *et al.*, 2009) y Puerto Rico (Bosques *et al.*, 2015) y en ganado de la raza Nellore en Brasil (de Carvalho, 2012, da Silva *et al.*, 2012, Oliveira *et al.*, 2013, Pinto *et al.*, 2011).

En la población estudiada los genotipos de los SNPs CAST282, CAST2959 y CAPN4751 y E2FB presentan buena segregación (Tabla 1). Las frecuencias del alelo C (0,509) y de los genotipos CC (0,285), CG (0,448) y GG (0,267) de CAST282 (Tabla 1) son similares a las reportadas por Castro (2013) y Pinto *et al.* (2011), de igual manera las frecuencias del alelo A (0,585) y de los genotipos AA (0,40), AG (0,37) y GG (0,23) de CAST2959 (Tabla 1) son similares a las reportadas por Castro (2013), Cueitia (2012) y Pereira *et al.* (2015).

Además, las frecuencias del alelo C (0,341) y del genotipo CC (0,289) de CAPN4751 (Tabla 1) son superiores a las reportadas por diferentes autores (Cafe *et al.*, 2010, Castro, 2013, Bosques *et al.*, 2015 y Smith *et al.*, 2009, Pinto *et al.*, 2011) quienes encontraron frecuencias de C y CC menores de 0,220 y 0,100, respectivamente, además, Cueitia (2012) no encontró individuos portadores del alelo C, debido quizá al tamaño de la muestra ( $n=22$ ). La frecuencia del genotipo CT (0,104) es similar a la observada por Smith *et al.* (2009), pero menor a la encontrada en otros estudios en los que se reportan valores entre 0,18 y 0,30 (Bosques *et al.*, 2015, Pinto *et al.*, 2011; Cafe *et al.*, 2010, Castro, 2013).

Las frecuencias del alelo T (0,189) y de los genotipos CC (0,633), CT (0,356) y TT (0,011) de E2FB (Tabla 1) son similares a las encontradas por de Oliveira *et al.* (2013) y da Silva *et al.* (2012), quienes reportaron frecuencias bajas o ausencia de individuos con el genotipo TT, en contraste con lo observado por de Carvalho (2012) quien reportó una frecuencia mayor (0,159).

En contraste con lo anterior, los genotipos de CAPN316 y E2JW no presentan una adecuada segregación (Tabla 1). Las frecuencias del alelo C (0,039) y la de los genotipos CC (0,0), CG (0,078) y GG (0,922) de CAPN316 (Tabla 1) son similares a las reportadas en diferentes estudios (Bosques *et al.*, 2015, Cafe *et al.*, 2010 y Castro, 2013, Pinto *et al.*, 2011) donde se encontraron valores inferiores a 0,05 en la frecuencia del alelo C, en contraste con lo reportado por Smith *et al.* (2009) y Cueitia (2012), cuyos frecuencias son superiores a 0,30, además, no se encontraron animales portadores del genotipo CC, salvo en el trabajo realizado por Cafe *et al.*, (2010), sin embargo, su frecuencia es muy baja (0,002).

Con respecto al SNP E2JW, las frecuencias del alelo T (0,009) y los genotipos AA (0,985), AT (0,010) y TT (0,004) (Tabla 1) son similares a las reportadas por da Silva *et al.* (2012), pero diferentes a las observadas por de Oliveira *et al.* (2013) quienes encontraron una frecuencia alta de animales portadores de AT (0,80).

En la población general y en todas las subpoblaciones el número de individuos heterocigotos observado ( $H_o$ ) es menor al esperado ( $H_e$ ) bajo condiciones de HWE (Tabla 2), esto sugiere una tendencia a la endogamia. Lo anterior puede ser explicado debido a que en las poblaciones existen fuerzas que alteran el HWE, entre otras, las practicas productivas en las ganaderías, el apareamiento selectivo, la endogamia, la estructura poblacional y la selección, quizás estas dos últimas son las principales razones, debido a la poca diferencia

en las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones (Nielsen y Slatkin, 2013). Se sugiere que las desviaciones del HWE ( $p < 0,05$ ) observadas en todas las subpoblaciones con respecto a CAPN4751 y de manera especial en Puerto Berrío para CAST4751, CAST2959 y E2JW y en Pueblo Nuevo para CAST4751, CAST2959 y E2FB (Tabla 2), podrían deberse a procesos de selección sobre características asociadas a estos marcadores, que afectarían sus frecuencias alélicas y genotípicas.

Excepto CAPN316/CAPN4751 y CAST282/CAST2959, las demás combinaciones de SNP analizados se encuentran en equilibrio de ligamiento, es decir que la frecuencia observada para la combinación de genotipos no difiere de manera significativa de su frecuencia esperada. De esta manera se puede afirmar que la presencia de cada alelo para cada uno de los genes analizados es independiente de la presencia de cualquier otro de ellos. Como en los bovinos los genes de CAPN1, CAST y LEP se encuentran en cromosomas diferentes, 29, 7 y 4 respectivamente, éstos poseen una tasa de recombinación máxima, es decir 0,5, confirmando su segregación independiente de acuerdo con la segunda ley de Mendel (Nielsen y Slatkin, 2013). El estado de equilibrio de ligamiento de la combinación E2FB/E2JW, puede explicarse por la baja frecuencia del alelo T, además es probable que se esté ejerciendo alguna fuerza selectiva sobre una característica relacionada con estos marcadores.

Como se mencionó antes, no se encontró el genotipo CC de CAPN316, y TT de E2JW se presenta en una frecuencia muy baja, mientras que los genotipos de los marcadores CAPN4751, CAST282, CAST2959 y E2FB presentan una adecuada segregación, sin embargo, en términos generales se observa una baja frecuencia de los alelos que han sido asociados con la producción de carnes más tiernas y jugosas. Lo anterior se puede constatar con las frecuencias de las combinaciones de genotipos, donde las frecuencias más altas las tienen aquellas que presentan un menor número de alelos favorables (Tabla 6).

El uso de los SNPs para evaluar la estructura genética de las poblaciones va en aumento debido a que algunos estudios demuestran que no hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos con éstos, comparados con los realizados usando microsatélites. Aunque los SNPs son marcadores moleculares son poco polimórficos, son codominantes y presentan tasas de mutación bajas, lo que disminuye la posibilidad de cometer errores en la estimación de los parámetros poblacionales y aumenta la reproducibilidad de los resultados (Coates *et al.*, 2009).

Teniendo en cuenta lo anterior se ha utilizado las frecuencias alélicas y genotípicas con el fin de caracterizar la estructura de las poblaciones estudiadas. Para ello, es importante saber que los estadísticos F permiten dividir el coeficiente de endogamia de una población subdividida ( $F_{IT}$ ) entre el componente debido a apareamientos no aleatorios dentro de las subpoblaciones ( $F_{IS}$ ) y la subdivisión entre poblaciones ( $F_{ST}$ ) (Piñero *et al.*, 2008). Para la población en estudio el  $F_{IT} = 0,157$  sugiere una baja tendencia la endogamia, de igual manera el  $F_{IS} = 0,153$  indica una leve tendencia a la homocigosidad debido al apareamiento no aleatorio entre los individuos de cada subpoblación (Tabla 3).

El valor de  $F_{ST} = 0,005$  para la población general indica una baja diferenciación genética entre las poblaciones, esto representa una reducción en la heterocigosidad debida a la subdivisión poblacional. El mayor grado de diferenciación fue entre las subpoblaciones de Montería y San Marcos, no obstante estas no fueron significativas ( $p > 0,05$ ) (Tabla 3), mientras que en las poblaciones de Montería y Puerto Berrío la diferenciación fue menor.

Esto podría explicarse por el modelo de producción, las ganaderías de Puerto Berrío y San Marcos tienen un modelo de ciclo completo, en el que se seleccionan los animales que se van a aparear y se hace seguimiento desde el nacimiento de las crías hasta llevarlos al sacrificio, mientras que en las ganaderías estudiadas en Montería y Pueblo Nuevo, el modelo es de finalización, donde los animales son adquiridos en las subastas y cebados en las fincas, no obstante, los datos sugieren que las poblaciones son muy homogéneas con tendencias a la endogamia, y los valores de  $F_{ST}$  son menores de 0.007, lo que indica poca o nula diferenciación. Debido a esta condición las subpoblaciones evaluadas se comportan como una sola población ([Tabla 4](#)).

Gómez *et al* ([2013](#)) evaluaron la estructura y la diversidad genética de la ganadería Brahman en 23 regiones de Colombia ( $n = 3789$ ) y encontró  $H_o = 0,6621$ ,  $HWE (P < 0,001)$ ,  $F_{IT} = 0,045$ ,  $F_{ST} = 0,003$  y  $F_{IS} = 0,042$  y en otro estudio realizado por Novoa y Usaqué en 2010 en 20 regiones del país ( $n = 178$ ), encontraron  $HWE (p < 0,001)$ ,  $H_o = 0,637$ ,  $F_{IS} = 0,067$ . Estos estudios también sugieren que esta ganadería está constituida por una sola población, que no existe una subestructura genética en la población, al parecer debido a la alta tasa de migración de animales entre las subpoblaciones, lo cual homogeniza las frecuencias, además, esta población posee un modesto grado de heterocigocidad y diversidad alélica, comparado con otras razas, explicado por su origen de mezcla multiracial ([Gómez et al., 2013](#), [Novoa y Usaqué, 2010](#)).

El  $Nm$  es el flujo de animales que entran a cada subpoblación en cada generación, esto influye en la disminución del índice de fijación, ejerciendo una fuerza importante contra la divergencia genética entre subpoblaciones ([Hartl y Clark, 2007](#)). Para la población analizada se encontró un  $Nm = 66,937$  ([Tabla 3](#)), lo que confirma que no existe subdivisión poblacional ([Nielsen y Slatkin, 2013](#)). Lo anterior podría explicar la baja diferenciación genética entre las subpoblaciones estudiadas, puesto que el alto flujo genético entre ellas mantiene homogéneas las frecuencias alélicas. Lo anterior es coherente, con el origen de esta raza en Colombia, puesto que desde que el ganado Brahman llegó al país ha estado sometido a un proceso continuo de selección artificial dirigida, mediante reproducción endogámica, efectos de deriva genética causados por eventos fundadores, migración de ejemplares entre poblaciones y la importación de animales ([Novoa y Usaqué, 2010](#)).

## Conclusiones

Las ganaderías Brahman estudiadas constituyen una sola población, en la que los marcadores CAPN316, CAPN4751, CAST282, CAST2959 y E2FB son polimórficos, aunque no ocurre lo mismo con E2JW, existe la posibilidad de producir carne de mejor calidad con estas ganaderías, debido a que aunque con frecuencias bajas, en esta raza se encuentran los alelos que han sido asociados con la producción de carnes más tiernas y jugosas. Por lo que el uso de los marcadores moleculares aquí presentados podría servir para realizar trabajos de selección asistida por marcadores, con el fin de aumentar la frecuencia de los alelos que favorecen la calidad.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de investigación e innovación de la Universidad CES y a Colciencias (122870048969) por el financiamiento del proyecto de investigación que soportó los resultados que se presentan en este documento.

## Referencias

1. Bosques J, Pagan-Morales M, Casas A, Rivera A, Cianzio D. Segregación de polimorfismos en m-calpaína y calpastatina en ganado para carne en Puerto Rico. *J Agric Univ PR* 2015; 99(2): 105-116. <http://revistas.upr.edu/index.php/jaupr/article/viewFile/3026/2570>
2. Buchanan FC, Fitzsimmons CJ, Van Kessel AG, Thue TD, Winkelman-Sim DC, Schmutz SM. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol* 2002; 34: 105-116. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11929627>
3. Cafe LM, McIntyre BL, Robinson DL, Geesink GH, Barendse W, Greenwood PL. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 1. Growth, efficiency, temperament, and carcass characteristics. *J Anim Sci* 2010; 88:3047-3058 doi:10.2527/jas.2009-2678. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20525933>
4. Carragher NO, Westhoff MA, Riley D, Potter DA, Dut P, Elce JS. v-Src-induced modulation of the calpain-calpastatin proteolytic system regulates transformation. *Mol Cell Biol* 2002; 22(1): 257-269. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11739739>
5. Castro SL. Evaluación de los polimorfismos de nucleótido simple asociados a cambios en el color de la carne en ganados *Bos indicus* y cruces con *Bos taurus*. Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2013. 57-58 p). <http://www.bdigital.unal.edu.co/12156/1/2635142.2013.pdf>
6. Clarke IJ, Henry BA. Leptin and reproduction. *Rev Reprod* 1999; 4: 48-55. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10051102>
7. Coates BS, Sumerford DV, Miller NJ, Kim KS, Sappington TW, Siegfried BD *et al.* Comparative Performance of Single Nucleotide Polymorphism and Microsatellite Markers for Population Genetic Analysis. *Journal of Heredity* 2009; 100(5):556-564. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19525239>
8. Cuetia JA. Polimorfismos de los genes calpaína y calpastatina en diez razas bovinas criollas mediante siete marcadores de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs). Tesis de maestría, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, 2012. 49 p. [http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo\\_110\\_lin\\_photo/articulos/2011/Cuetia2011\\_1\\_191\\_194.pdf](http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo_110_lin_photo/articulos/2011/Cuetia2011_1_191_194.pdf)
9. da Silva RCG, Ferraz JBS, Meirelles FV, Eler JP, Balieiro JCC, Cucco DC *et al.* Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. *Gen Mol Res* 2012; 11(4): 3721-3728. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22930433>
10. de Carvalho TD, Siqueira F, de Almeida RA, de Medeiros SR, Dias GL, de Souza MD *et al.* Association of polymorphisms in the leptin and thyroglobulin genes with meat quality and carcass traits in beef cattle. *R Bras Zootec* 2012; 41(10): 2162-2168. [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982012001000004&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982012001000004&script=sci_abstract)

11. de Oliveira JA, da Cunha CM, Crispim BA, de Oliveira L, Mendes AR, Nogueira GP *et al.* Association of the leptin gene with carcass characteristics in nellore cattle. *Anim Biotech* 2013; 24: 229–242. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23777351>
12. Gómez YM, Fernández M, Rivera D, Gómez G, Bernal JE. Genetic characterization of Colombian Brahman cattle using microsatellites markers. *Russ J Genet* 2013; 49: 737. doi:10.1134/S1022795413070041. <https://link.springer.com/article/10.1134/S1022795413070041>
13. Hartl DL, Clark AG. Principles of population genetics. 4th ed. USA: Sinauer Associates; 2007. <https://www.amazon.com/Principles-Population-Genetics-Daniel-Hartl/dp/0878933085>
14. Houseknecht KL. The biology of leptin: A review. *J Anim Sci* 1998; 76: 1405-20. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9621947>
15. Lagonigro R, Wiener P, Pilla F, Woolliams JA, Williams JL. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. *Anim Genet* 2003; 34:371–374. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14510674>
16. López-Rojas LE, Patiño L, Martínez JM, Durán S, Correa LJ, González S, *et al.* El análisis de alta resolución en la temperatura de disociación permite genotipificación de marcadores relacionados con la carne de bovino. *Cuban J Agr Sci* 2016; 50(1): 5-10. <http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/handle/10946/4335>
17. López-Rojas LE, Patiño L, López A y Echeverri JJ. Genotyping of SNPs associated with meat tenderness: comparison of two PCR-based methods. *Genet Mol Res* 2017; 16 (2): gmr16029635. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28525658>
18. Mácajová M, Lamosová M. Role of leptin in farm animals: a review. *J Vet Med* 2004; 51:157-66. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15265171>
19. Meirelles FV, Rosa AJM, Lobo RB, García JM, Smith L.C, Duarte FAM. Is the zebu really *Bos indicus*? *Genet Mol Biol* 1999; 22(4): 543-546. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-47571999000400013](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47571999000400013)
20. Morris CA, Cullen NG, Hickey SM, Dobbie PM, Veenvliet BA, Manley TR, *et al.* Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked *M. longissimus dorsi* steaks from Jersey? Limousin, Angus and Hereford-cross cattle. *Anim Genet* 2006; 37(4): 411-4. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2006.01483.x
21. Nielsen R, Slatkin M. An introduction to population genetics: theory and applications. Sunderland, MA: Sinauer Associates; 2013. p. 287. <https://academic.oup.com/sysbio/article/63/5/843/2847794/An-Introduction-to-Population-Genetics-Theory-and>
22. Novoa MA, Usaquen W. Population genetic analysis of the Brahman cattle (*Bos indicus*) in Colombia with microsatellite markers. *J Anim Breed Genet* 2010; 127(2): 161-8. doi: [10.1111/j.1439-0388.2009.00811.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2009.00811.x).

23. Page BT, Casas E, Heaton MP, Cullen NG, Hyndman DL, Morris CA, *et al.* Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *J Anim Sci* 2002; 80: 3077-3085. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12542147>
24. Peakall R, Smouse P. GenALEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 2012; 28(19): 2537–2539. doi:[10.1093/bioinformatics/bts460](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460).
25. Pereira NI, Soares WVB, Lara MAC. Polimorfismos dos genes calpaína e calpastatina em bovinos. *Act Ib Cons Anim AICA* 2015; 6: 272-279. <http://www.ingentaconnect.com/content/doi/22537325/2015/00000006/00000001/art00033?crawler=true>
26. Pinto LFB, Ferraz JBS, Pedrosa VB, Eler JP, Meirelles FV, Bonin MN, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in CAPN and leptin genes associated with meat color and tenderness in Nellore cattle. *Genet Mol Res* 2011; 10(3): 2057-2064. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21968622>
27. Piñero D, Barahona A, Eguiarte L, Rocha A, Salas R. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. *Conabio* 2008; 1 (Supl 1): 415-435. [http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/pdf/CapNatMex/Vol%201/I14\\_Lavariabilidadgen.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/pdf/CapNatMex/Vol%201/I14_Lavariabilidadgen.pdf)
28. Rodríguez JM. Razas Bovinas en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. 1993.
29. Sanders JO. History and Development of Zebu Cattle in the United States. *J Anim Sci* 1980; 50 (6): 1188-1200. <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/50/6/JAN0500061188?access=0&view=pdf>
30. Schenkel FS, Miller SP, Jiang Z, Mandell IB, Ye XLH, Wilton JW. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J Anim Sci* 2006; 84: 291-299. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16424255>
31. Schenkel FS, Miller SP, Ye X, Moore SS, Nkrumah JD, Li C, *et al.* Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J Anim Sci* 2005; 83(9): 2009-20. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16100055>
32. Smith T, Thomas MG, Bidner TD, Paschal JC, Franke DE. Single nucleotide polymorphisms in Brahman steers and their association with carcass and tenderness traits. *Genet Mol Res* 2009; 8 (1): 39-46. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19224465>
33. Vásquez R, Pulido J, Abuabara Y, Onofre G, Martínez R, Abadía B *et al.* Patrones tecnológicos y calidad de la carne bovina en el caribe colombiano. Cundinamarca, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica – Subdirección de Investigación e Innovación Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Animal CI Tibaitatá – Mosquera, 2005. p.94. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000334&pid=S0120-0690201400020000300088&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000334&pid=S0120-0690201400020000300088&lng=en)

34. Warner RD, Greenwood PL, Pethick DW, Ferguson DM. Genetic and environmental effects on meat quality. *Meat Science* 2010; 86 (1): 171-183. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20561754>
35. Wheeler TL, Cundiff LV, Koch RM. Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *J Anim Sci* 1994; 72: 3145-3151. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7759364>
36. White SN, Casas E, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, Riley DG, *et al.* 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* 2005; 83(9): 2001-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16100054>