

Marcadores moleculares y genes asociados a calidad de carne en el ganado bovino

Molecular markers and genes associated with meat quality in cattle

Camilo A Camargo Pitalua^{1*} ; Donicer E Montes Vergara¹ ; Alexander Pérez Cordero¹ 

¹Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Colombia.

*Correspondencia: camilo.camargo@unisucrevirtual.edu.co

Recepción: 10 diciembre 2023 | Aprobación: 25 enero 2024 | Publicación: 1 febrero 2024

RESUMEN

La carne bovina es una fuente de proteína, la cual posee propiedades fisicoquímicas como la ternura, jugosidad, marmóreo, sabor y retención de agua, que influyen sobre la calidad de la misma. En la actualidad, con ayuda técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa, electroforesis y secuenciación, donde se pueden analizar y detectar marcadores moleculares, se ha descubierto en varias razas bovinas que cambios de algún nucleótido en genes como la calpaína y la calpastatina principalmente, pueden afectar las propiedades antes mencionadas generando una carne mucho mas llamativa para el consumidor, por esta razón el uso de marcadores moleculares como una herramienta de selección cada día toma mas fuerzas, debido a que se puede obtener la información de que características tendrá la carne de un individuo y de la descendencia, con el simple hecho de analizar una muestra biológica que contenga su ADN, en la presente revisión se describen algunos genes que tienen efecto sobre las propiedades de la carne y se mencionan polimorfismos de nucleótidos que pueden afectarlas, enfatizando en el gen calpaína y calpastatina, y su influencia en las distintas características.

Palabras clave: Calpaína; Calpastatina; proteasas; propiedades organolépticas; sabor; ternura (*AGROVOC*).

ABSTRACT

Beef is a source of protein, which has physicochemical properties such as tenderness, juiciness, marbling, flavor and water retention, which influence its quality. Currently, with the help of molecular techniques such as polymerase chain reaction, electrophoresis and sequencing, where molecular markers can be analyzed and detected, it has been discovered in several bovine breeds that changes of some nucleotide in genes such as calpain and calpastatin. Mainly, they can affect the aforementioned properties, generating a much more attractive meat for the consumer, for this reason the use of molecular markers as a selection tool is gaining more strength every day, because information can be obtained about what characteristics the meat will have. meat of an individual and the offspring, with the simple act of analyzing a biological sample that contains its DNA, in this review we describe some genes that have an effect on the properties of meat and mention nucleotide polymorphisms that can affect them, emphasizing the calpain and calpastatin gene, and their influence on the different characteristics.

Keywords: Calpain; Calpastatin; proteases; organoleptic properties; flavor; tenderness. (*AGROVOC*).

Como citar (Vancouver).

Camargo-Pitalua CA, Montes-Vergara DE, Pérez Cordero A. Marcadores moleculares y genes asociados a calidad de carne en el ganado bovino. Rev Colombiana Cienc Anim. Recia. 2024; 16(1):e1071. <https://doi.org/10.24188/recia.v16.n1.2024.1071>

INTRODUCCIÓN

El consumidor de carne bovina logra sentir satisfacción debido a un conjunto de propiedades organolépticas de la carne como lo son la jugosidad, el sabor y la ternera; siendo la última uno de los criterios más importantes para la clasificación de carnes dentro de los estándares de calidad (1). Las características de calidad de la carne son afectadas principalmente por factores genéticos y ambientales (1). Partiendo del componente genético, la genética cuantitativa ha comprobado que existe diferencias de la ternera entre y dentro de las razas bovinas (2). Sin embargo, actualmente se cuenta con nuevas herramientas para los estudios de genética animal que se han desarrollado con base en avances de la biología molecular y la genómica (3).

Las técnicas moleculares son conjunto de herramientas usadas para el análisis de marcadores moleculares en el genoma y proteoma de los individuos (4). Este tipo de biotecnología contribuye a seleccionar aquellos portadores de genes asociados a características productivas de importancia económica y a usarlos en cruzamientos dirigidos para crear una nueva variedad que mejore la calidad de sus productos (5). El desarrollo de marcadores moleculares permite encontrar genes favorables en los animales y por medio de estos se han determinado características de calidad de carne vacuna (6).

Los marcadores de ADN se han empleado para reconocer *loci* o regiones cromosómicas (QTL, por *Quantitative Trait Loci*) que tienen efecto tanto a caracteres cualitativos como cuantitativos. El marcador puede estar relacionado con un gen mayor, ligado a éste o a varios genes con efectos aditivos. De este modo, los marcadores moleculares representan una gran ventaja al momento de realizar la selección, pues tienen una segregación simple, son codominantes, su determinación es exacta, simple y puede realizarse a partir de la etapa embrionaria de un individuo(7).

Existen dos maneras de encontrar genes o regiones responsables de una característica dada: la detección de QTLs y el estudio de genes candidatos. Para la detección de QTLs se hace necesario un gran número de registros fenotípicos y generalmente se utiliza en caracteres de medición rutinaria, como el peso, altura, pelaje, cuernos, etc. Mientras que el estudio de genes candidatos, se basa generalmente en características que no tienen medición rutinaria, como la ternera, color de carne, marmóreo, etc. (8.). La metodología de MAS (selección asistida por marcadores) aprovecha los polimorfismos genéticos y la asociación de sus alelos con caracteres productivos de importancia económica, para ser usados en la selección de individuos. De esta forma, la MAS podría tener un impacto teórico del 5 al 20%, principalmente en caracteres donde la selección cuantitativa encuentra dificultades, como lo son características no medidas rutinariamente o medibles tardíamente (*post mortem* o en animales de un solo sexo) (9). El objetivo de esta revisión es dar a conocer los principales genes y marcadores genéticos asociados a la calidad de la carne el bovino.

GENES ASOCIADOS A CALIDAD DE CARNE

Calpaína Y Calpastatina. Las calpaínas (CAPN) son proteasas que se encargan de hidrolizar enlaces próximos a la cisteína y participan en los procesos de maduración y enternecimiento de la carne (10). En el músculo esquelético se encuentran dos isoformas principales: μ -CAPN y m-CAPN. La calpastatina (CAST), se conoce como inhibidor competitivo de las dos proteasas (μ -CAPN y m-CAPN) dependientes de Ca^{2+} (11). El sistema CAPN/CAST está involucrado en el desarrollo muscular, la diferenciación y comunicación celular, la degradación de proteínas musculares (12) y de proteínas de la membrana celular durante la fusión de los mioblastos, al formarse el miotubo (13, 14). El gen de la CAPN está ubicado en el cromosoma 29 del bovino (15), el cual consta de 22 exones y 21 intrones (16) y el gen de la CAST se encuentra en el cromosoma 7 (3) comprendiendo 35 exones (17).

Tiroglobulina. Es una molécula promotora de las hormonas tiroideas triyodotironina (T3) y tetrayodotironina (T4) (hormona que juegan un papel importante sobre el metabolismo). Se ha documentado que los individuos homocigotos para la mutación (transición de citosina (C) a timina (T) en la posición 1696) tienden a acumular una mayor cantidad de grasa en el músculo *Longissimus dorsi* (Lomo) que los animales que no la presentan (18, 19, 20).

Leptina. El gen LEP que codifica la leptina y se localiza en el cromosoma 4 (21), es el encargado de reducir la ingesta energética al generar una señal de saciedad en el cerebro, además, tiene un efecto a corto plazo que contribuye al mantenimiento de la homeostasis del peso corporal, la composición corporal y la deposición de grasa en el músculo; la cual está asociada a las características de la canal (22, 23). Por tanto, se ha encontrado que animales que contengan la siguiente mutación, donde se da la transición de una citosina (C) a una timina (T) en el codón 25 del exón 2, presentan una mayor predisposición a generar canales grasas (24, 25, 26,27, 28).

Proteína de unión a ácidos grasos 4 (fabp4). Es una proteína citoplasmática que participa en el metabolismo de los lípidos y la adipogénesis músculo-específica, por lo tanto, su presencia en diferentes razas bovinas es de suma importancia para la industria cárnica. Se ha notado que los individuos que poseen la mutación evaluada (Transversión de citosina por guanina en posición 7516) presentan una mayor capacidad de infiltrar grasa a nivel intramuscular (29, 30).

PROPIEDADES DE LA CARNE BOVINA

La palatabilidad, se define como la serie de sensaciones que experimenta el consumidor al probar la carne, está relacionada con la terneza, la jugosidad y el sabor (31). Al ser la terneza uno de los criterios en los que más se enfatiza para inferir sobre la calidad de la carne, es conocida como un atributo complejo, en el cual, influyen factores como la edad, sexo, raza, stress del animal pre-faenado, condiciones de sacrificio, actividad proteolítica pos-mortem, contenido y densidad de fibra en el músculo, y cantidad, tipo y disposición del tejido conectivo (32).

La degradación proteolítica pos-mortem se presenta durante el proceso de transformación de músculo a carne en el periodo de almacenamiento a temperaturas de refrigeración y es dirigida principalmente por el sistema calpaína (CAPN) - calpastatina (CAST) (33); por tanto, polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en estos genes han sido asociados con una mayor terneza de la carne (34).

Terneza de la carne. Está relacionada con la edad, la genética, el sexo y el manejo integral del individuo (35). De la misma forma, es influenciada por tipo de músculo, donde participan las fibras musculares y el colágeno (36,32). En la fase de maduración, el tejido muscular se convierte en carne y su terneza está dada por la actividad proteolítica. El estudio de marcadores moleculares en genes como CAPN1 y CAST ha tomado importancia debido al efecto que tienen algunos sobre la terneza de la carne (37, 38).

En bovinos, a medida que aumenta el tiempo de maduración de la carne, la fuerza de corte es disminuye; en el caso de la raza Nelore la fuerza de corte baja de 5.02 kg/cm² al séptimo día hasta 3,57 kg/cm² al día 21. Los SNPs CAPN-4751, CAST-282 y CAST- 263 de los genes CAPN1 y CAST se asocian con la fuerza de corte en el músculo *Longissimus dorsi* en carne madurada en tres tiempos (37). Valores similares también se da en carne de bovinos Brahman al analizarse SNPs CAPN-316 y CAPN-4751 (39). El atributo que se le confiere al CAPN-4751 es por la transición de citosina por timina y CAPN-316 por la sustitución de la base citosina por guanina, logrando codificar al aminoácido de alamina y sustituirla por glicina (16).

En un estudio de bovinos de las razas Angus, Limousin, Charoláis y Simmental, se observó que los individuos con genotipo CC generan carne con mayor terneza respecto a GG y GC en el SNP CAST-282 (21). En el caso de, Carvalho et al., (40) reportaron que el genotipo CC presento mayor terneza en comparación con los CT y TT del SNP CAPN-4751. De igual manera, para el SNP CAPN-4751, se evidencio que animales con genotipo CT presentan carne mucho más tierna respecto a los de genotipo TT en bovinos de raza Nelore y cruces de Angus con Nelore, Canchim, Brangus y Braunvieh (41). Dentro de los genotipos del SNP CAPN-316, el GG produce carne con mejor terneza en comparación con los CG y CC en bovinos Aberdeen Angus (42).

Marmóreo. Es uno de los factores relevantes a tener en cuenta cuando a calidad de carne se refiere (43). Se representa como la proporción de grasa intramuscular en los haces musculares (44). Estructuralmente el gen CAPN1 está conformado por 21 exones y 20 intrones (45); de estos, se ha detectado que en los exones 5 y 6 en bovinos de raza Bali se encuentran ocho SNPs, de los cuales, solo el CAPN-3669 y CAPN-3899 (NW_001494538) están asociados con la puntuación del marmoleo (46). De igual manera, se ha descubierto relación del gen CAPN1 con marmoleo en individuos de raza Angus, Jinnan, Simmental, Qinchuan y cruce de Simmental con Menggu (43). Hou et al., (47) reportaron que los animales donde exista un cambio de una adenina por una guanina en la posición 3553 del CAPN1 y que cuenten con el genotipo AA expresan un mejor grado de marmoleo en comparación con los genotipos AG y GG.

Es de aclarar que el puntaje de marmoleo puede cambiar de acuerdo con las razas y a factores fisiológicos como lo son las hormonas tiroideas las cuales tienen una función importante en el control del metabolismo y el equilibrio de los depósitos de grasa (39). En un estudio realizado por Shin & Chung (39) en ganado bovino coreano reportaron que el SNP C422T presente en el gen de la tiroglobulina estaba asociado a un mayor porcentaje de marmoleo; encontrando tres genotipos, CC, CT y TT, de los cuales los animales CC y CT tuvieron una puntuación más alta de marmoleo que aquellos con el genotipo TT.

El gen LEP presenta varios polimorfismos como los SNP E2FB (27) y E2JW (48) encontrándose que animales con el alelo T presentan mayor contenido de grasa intramuscular (27, 48). El consumidor prefiere carne con un excelente marmoleo debido a que está tiene mejor palatabilidad (49). En lo referente al tamaño de las partículas y distribución de marmoleo se ha logrado captar la atención del productor, ya que ha caído en cuenta que los consumidores buscan carne con marmoleo intermedio (50).de igual manera, el tamaño y la distribución de las partículas de marmoleo tienen una relación directa con el precio de carne de bovinos (51). Es relevante aclarar que esta propiedad de la carne se encuentra relacionada con otras propiedades sensoriales como la terneza, jugosidad y palatabilidad de la carne (52).

Jugosidad de la carne. Esta característica se define como la sensación de liberación de agua por parte de la carne y al tiempo se ve influenciada por la acción de los lípidos en la liberación de la saliva. Al existir una limitada jugosidad las propiedades sensoriales de la carne se ven afectadas y reduce aprobación por parte del consumidor. Existen estudios en la que se asocia el SNP CAST2959 del gen CAST con la jugosidad de carne de animales cruzados de ascendencia *Bos taurus* (53). la capacidad de retención de agua (CRA) tiene un efecto fuerte sobre la calidad nutritiva y la jugosidad de la carne (54, 55).

Capacidad de retención de agua de la carne. La pérdida de agua en la carne se presenta en los procesos de enfriamiento, desposte, congelación, descongelación y cocción, bien sea de manera espontánea o por acción de fuerzas externas, como el corte, el picado, el prensado, el almacenamiento, el procesamiento, la compresión, la centrifugación, el transporte, la succión, entre otros (56). El SNP CAST-282 del gen CAST se asocia con la CRA en el músculo *Longissimus thoracis et lumborum* de la carne de bovinos irlandeses cruzados, al considerarse al pH a las 48 h *post mortem*. La conexión de la calpastatina y la CRA podría construir un vínculo a través de la concentración de iones de Ca⁺⁺ y el ritmo de la contracción muscular (43).

Leal et al (57) reportaron que el marcador CAST2959 presentó significancia en la asociación con el parámetro capacidad de retención de agua en el músculo *Longissimus dorsi*, siendo los individuos AA aquellos con el mejor desempeño respecto a animales AG y GG. En cuanto al gen RYR1, se encontró que el polimorfismo RYR1-11195 está relacionado con la capacidad de retención de agua en carne cocinada (CRAC) en el músculo *Longissimus dorsi*, siendo los genotipos AG y GG los que presentan una mayor pérdida de peso asociada a una mayor pérdida de agua durante la cocción, cuando son comparados con animales de genotipo AA. De igual manera, Leal et al., (57) no encontraron del gen PRKAG3 con la característica evaluada, difiriendo de lo que reporto Reardon et al. (58), donde el marcador PRKAG3-2951 asociado con el parámetro pH a 24 horas y con laCRAC lomo, siendo los animales con genotipo AG y AA los que presentaron un incremento en un 1 % en su valor de pérdida de agua respecto a individuos con genotipo GG.

Sabor de la carne. Este proviene de la fracción muscular soluble en agua, pero las diferencias propias de la especie en el aroma de carne cocida se dan principalmente por la concentración y composición de sustancias aromatizantes derivadas de los lípidos. Los principales precursores del sabor están divididos en componentes solubles en agua y lípidos. El sabor rancio puede deberse a una autooxidación de los lípidos, sin embargo, cuando se da una oxidación adecuada de estos en la cocción se desprenden aromas deseables y acompañados de un adecuado sabor (59).

Se ha reportado relación entre el SNP CAST-2959 del gen CAST con el sabor de la carne de bovinos, obtenido de cruces entre *Bos taurus* con *Bos indicus*. De igual manera, ocurre en SNPs CAPN-530 del gen CAPN1, donde Bovinos con herencia de genotipo CC producen carnes más tiernas y sabrosas (C alelo favorable para el marcador CAPN1, SNP CAPN-530) respecto a animales con genotipo TT; y los bovinos con genotipo TT producen carnes más duras o menos tiernas. Diferente a lo que ocurre en el SNP CAST-2959 del gen CAST donde los animales con genotipos TT en el presentan carne más tierna respecto a los bovinos de genotipo CC (53).

En conclusión, los diversos estudios demuestran, que la selección de animales asistida con marcadores genéticos, haciendo uso de la genética cuantitativa, considerando los efectos que causa el ambiente y la interacción entre genotipo ambiente, son un método adecuado para reducir riesgos en los sistemas de producción y generar productos de calidad al consumidor.

Conflicto de intereses

Los autores certifican que no existe conflicto de intereses, ni por el desarrollo de la investigación, ni por la publicación de los resultados.

Financiación

Los autores declaran que no tienen intereses financieros en competencia, ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo presentado.

REFERENCIAS

1. Soria LA & Corva PM. Factores genéticos y ambientales que determinan la terneza de la carne bovina Genetic and environmental factors influencing beef tenderness. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2004; 12(2). https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs_files/article/view/20
2. Mateescu, RG. Genetics of meat quality. In: The genetics of cattle. DJ Garrick and A. Ruvinsky (2 Ed.). CABI Publishing. New York. 2014. <https://doi.org/10.1079/9781780642215.0544>
3. Kappes SM. Utilization of gene mapping information in livestock animals. Theriogenology, 1999; 51:135. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(98\)00237-4](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(98)00237-4)
4. Doelle W, Rokem S, Berovic M. In: Methods in biotechnology, Vol. 2, Ed. Horst (Ed.). Horst W. Doelle, Stefan Rokem, Marin Berovic 2009. <https://www.eolss.net/ebooklib/bookinfo/biotechnology.aspx>
5. FAO. La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura, 2010. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/1b5aaa26-cf58-44a9-83f7-8998d117fb70>
6. Moreno N, Carabaño MJ, Venturini G, Rueda J, González C, Serrano M, et al.. Combinación de información de expresión diferencial y genotipado de genoma completo para redefinir regiones qtls asociados a caracteres de calidad de carne en bovino. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, 2012; 6(1):50-54. <https://link.gale.com/apps/doc/A310150453/IFME?u=anon~cb55f2c2&sid=googleScholar&xid=fdcbfc7e>
7. Falomir Lockhart AH. El color de la carne bovina: Estudio de la influencia y asociación de polimorfismos en genes candidatos. 2020. <https://notablesdelaciencia.conicet.gov.ar/handle/11336/144733>
8. Dekkers JCM. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. J Anim Sci. 2004; 82:E313-328. https://doi.org/10.2527/2004.8213_supple313x
9. Weller J. Current and Future Developments in Patents for Quantitative Trait Loci in Dairy Cattle. Recent Pat. DNA Gene Seq. 2007; 1:69-76. <https://doi.org/10.2174/187221507779814489>
10. Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W, Cong J. The calpain system. Physiol Rev. 2003; 83(3):731-801. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2002>
11. Desgarennes-Alcalá CM, Moral Sd, Meza-Villalvazo VM, Peña-Castro JM, Zárate-Martínez JP, Abad-Zavaleta J. Estimación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los genes CAPN1 Y CAST asociados a la calidad de la carne en bovinos de la Cuenca del Papaloapan. Nova Scientia 2017 ;9(19):211-228. <https://doi.org/10.21640/ns.v9i19.996>
12. Van den Maagdenberg K, Claeys E, Stinckens A, Buys N, De Smet S. Effect of age, muscle type, and insulin-like growth factor-II genotype on muscle proteolytic and lipolytic enzyme activities in boars1. J Anim Sci. 2007; 85(4):952-960. <http://dx.doi.org/10.2527/jas.20063>
13. Moyen C, Goudenege S, Poussard S, Sassi AH, Brustis JJ, Cottin P. Involvement of micro-calpain (CAPN 1) in muscle cell differentiation. Int. J Biochem Cell Biol. 2004; 36(4):728-743. [https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(03\)00265-6](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(03)00265-6)
14. Barnoy S, M Maki, NS Kosower. Overexpression of calpastatin inhibits L8 myoblast fusion. Biochem Biophys Res, 2005; 332(3):697-701. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.05.010>
15. Rodriguez SL, Southey BR, Heyen DW, Lewin HA. Interval and composite interval mapping of somatic cell score, yield, and components of milk in dairy cattle. J Dairy Sci 2002; 85(11):3081-3091. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74395-6](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74395-6)
16. 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(12):3077-3085. <https://doi.org/10.2527/2002.80123077x>

17. Raynaud P, Gillard M, Parr T, Bardsley R, Amarger V, Levéziel H. Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein isoforms. *Arch Biochem Biophys.* 2005; 440(1):46-53. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.05.028>
18. Barendse W. Assessing lipid metabolism. *Int. Pat. Appl. PCT/ AU98/00882, Int Pat Publ WO 1999; 99/23248.* <https://patents.google.com/patent/US6383751>
19. Thaller G, C Kuhn, A Winter, G Ewald, O Bellmann, J Wegner, H Zuhlke, R Fries. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim Genet.* 2003; 34:354-357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2003.01011.x>
20. Casas E, SN White, SD Shackelford, TL Wheeler, M Koohmaraie, GL Bennett, TP Smith. Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *J Anim Sci.* 2007; 85:2807-2814. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0179>
21. Schenkel FS, Miller SP, Ye X, Moore SS, Nkrumah JD, Li C, Yu J, Mandell IB, Wilton JW, Williams JL. 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://doi.org/10.2527/2005.8392009x>
22. Máčajová M, Lamošová D, Zeman M. Role of leptin in farm animals: a review. *Journal of Veterinary Medicine Series A.* 2004; 51(4):157-166. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2004.00619.x>
23. Fernandes JS, Crispim BA, Seno LO, Aspilcueta RR, Barufatti A. Polymorphisms related to bovine leptin gene and association with productive and reproductive traits in Nellore heifers. *Tropical Animal Science Journal.* 2020; 43(1):18-24. <https://doi.org/10.5398/tasj.2020.43.1.18>
24. Santos-Alvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V. Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol.* 1999; 194(1):6-11. <https://doi.org/10.1006/cimm.1999.1490>
25. Kadokawa H, Blache D, Yamada Y, Martin GB. Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod Fertil Dev.* 2000; 12(7-8):405-411. <https://doi.org/10.1071/rd01001>
26. Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J Endocrinol.* 2001; 171(2):339-348. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1710339>
27. 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(1):105-116. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-1-105>
28. Kononoff PJ, Deobald HM, Stewart EL, Laycock AD, Marquess FL. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade, and carcass weight of beef cattle. *J Anim Sci.* 2005; 83(4):927-932. <https://doi.org/10.2527/2005.834927x>
29. Kaikaus RM, Bass NM, Ockner RK. Functions of fatty acid binding proteins. *Experientia.* 1990; 46(6):617-630. <https://doi.org/10.1007/bf01939701>
30. Michal JJ, Zhang ZW, Gaskins CT, Jiang Z. The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. *Anim Genet.* 2006; 37(4):400-402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2006.01464.x>
31. Li X, Ekerljung M, Lundström K, Lundén A. Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Sci.* 2013; 94(2):153-158. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.010>
32. Chriki S, Renand G, Picard B, Micol D, Journaux L, Hocquette J. Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. *Livest Sci* 2013; 155:424-434. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.04.009>

33. Ba HV, Reddy BV, Hwang I. Role of calpastatin in the regulation of mRNA expression of calpain, caspase, and heat shock protein systems in bovine muscle satellite cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2015; 51(5):447-454. <https://doi.org/10.1007/s11626-014-9849-8>
34. Savaçi M, Atasoy F. The investigation of calpastatin and thyroglobulin gene polymorphisms in some native cattle breeds. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2016; 63:53-59. http://dx.doi.org/10.1501/Vetfak_0000002709
35. Gagaoua M, Picard B, Soulat J, Monteils V. Clustering of sensory eating qualities of beef: Consistencies and differences within carcass, muscle, animal characteristics and rearing factors. *Livest Sci.* 2018; 214:245-258. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.06.011>
36. Renerre M, Anton M, Gatellier P. Autoxidation of purified myoglobin from two bovine muscles. *Meat Sci.* 1992; 32(3):331-342. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(92\)90096-M](https://doi.org/10.1016/0309-1740(92)90096-M)
37. Pinto LFB, Ferraz JBS, Meirelles FV, Eler JP, Rezende FM, Carvalho ME, et al. Association of SNPs on CAPN 1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. *Genet Mol Res.* 2010; 9(3):1431-1442. <https://doi.org/10.4238/vol9-3gmr881>
38. 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://doi.org/10.4238/vol8-1gmr537>
39. Shin SC, Chung ER. Association of SNP marker in the thyroglobulin gene with carcass and meat quality traits in Korean cattle. *Asian Austral J Anim.* 2006; 20(2):172-177. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.172>
40. Carvalho ME, Eler JP, Bonin MN, Rezende FM, Biase FH, Meirelles FV, Regitano LC, Coutinho LL, Balieiro JC, Ferraz JB. Genotypic and allelic frequencies of gene polymorphisms associated with meat tenderness in Nellore beef cattle. *Genet Mol Res.* 2017; 16(1). <https://doi.org/10.4238/gmr16018957>
41. Curi RA, Chardulo LAL, Mason MC, Arrigoni MDB, Silveira AC, De Oliveira HN. Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nellore beef cattle (*Bos indicus*) and in their crosses with *Bos taurus*. *Anim Genet.* 2009; 40:456-462. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01859.x>
42. Gill JL, Bishop SC, McCorquodale C, Williams JL, Wiener P. Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. *Genet Sel Evo.* 2009; 41:36. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-36>
43. Saucedo Uriarte JA, Cayo Colca IS, Diaz Quevedo C, López Lapa RM. Asociación de polimorfismos en los genes CAPN y CAST con propiedades fisicoquímicas de la carne bovina: una revisión. *CES Med Zootec.* 2021; 16(1):8-28. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.16.1.1>
44. Hocquette JF, Gondret F, Baéza E, Médale F, Jurie C, Pethick DW. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal.* 2010; 4(2):303-319. <https://doi.org/10.1017/s1751731109991091>
45. Dear TN, Meier NT, Hunn M, Boehm T. Gene structure, chromosomal localization, and expression pattern of Capn12, a new member of the calpain large subunit gene family. *Genomics* 2000; 68:152-160. <https://doi.org/10.1006/geno.2000.6289>
46. Pratiwi N, Maskur M, Priyanto R, Jakaria J. Novel SNP of calpain-1 (CAPN1) gene and its association with carcass and meat characteristics traits in Bali cattle. *J Indones Trop Anim Agric.* 2016; 41(3):109-116. <https://doi.org/10.14710/jitaa.41.3.109-116>
47. Hou G, Huang M, Gao X, Li J, Gao H, Ren H, et al. Association of Calpain 1 (CAPN1) and HRSP12 allelic variants in beef cattle with carcass traits. *Afr J Biotechnol* 2011; 10(63):13714-13718. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.338>
48. 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. *Animal Genetics.* 2003; 34(5):371-374. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2003.01028.x>

49. Park SJ, Beak SH, Da Jin Sol Jung SY, Kim IHJ, Piao MY, Kang HJ, et al. Genetic, management and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle—a review. *Asian Austral J Anim.* 2018; 31(7):1043–1061. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0310>
50. Lee B, Yoon S, Lee Y, Oh E, Yun YK, Do Kim B, et al. Comparison of marbling fleck characteristics and objective tenderness parameters with different marbling coarseness within longissimus thoracis muscle of high-marbled Hanwoo steer. *Korean J Food Sci An.* 2018; 38(3):606–614. <https://doi.org/10.5851/2Fkosfa.2018.38.3.606>
51. Beak SH, Park SJ, Fassah DM, Kim HJ, Kim M, Jo C, et al. Relationships among carcass traits, auction price, and image analysis traits of marbling characteristics in Korean cattle beef. *Meat Sci.* 2021; 171:108268. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108268>
52. 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(12):3145–3151. <https://doi.org/10.2527/1994.72123145x>
53. Casas E, White SN, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, Riley DG, et al. Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J Anim Sci.* 2006; 84(3):520–525. <https://doi.org/10.2527/2006.843520x>
54. Bertram H, Andersen H, Karlsson A, Horn P, Hedegaard J, Nørgaard L, Engelsen S. Prediction of technological quality (cooking loss and Napole yield) of pork based on fresh meat characteristics. *Meat Science.* 2003; 65:707-712. [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(02\)00272-3](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(02)00272-3)
55. Aaslyng, M. Trends in meat and consumption and the need for fresh meat and meat products of improved quality. En J. Kerry y D. Ledward (Eds), *Improving the sensory and nutritional quality of fresh mead.* Woodhead Publishing Lta; 2009. <http://dx.doi.org/10.1533/9781845695439.1.3>
56. Pearce KL, Rosenvold K, Andersen HJ, Hopkins DL. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes – A review. *Meat Science.* 2011; 89(2):111- 124. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>
57. Leal-Gutiérrez JD, Jiménez-Robayo LM, Ariza M, Manrique C, López J, Martínez C, et al. Polimorfismos de los genes CAPN1, CAST, DES, PRKAG3 y RYR1 asociados a la capacidad de retención de agua en crudo y cocinado en carne de bovino en cruces *Bos indicus* y *Bos taurus* en Colombia *Archivos de Zootecnia.* 2015; 64(245):29-35. <https://doi.org/10.21071/az.v64i245.371>
58. Reardon W, Mullen A, Sweeney T, Hamill R. Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine *M. longissimus* and *M. semimembranosus*. *Meat Science.* 2010; 86:270-275. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.013>
59. Song S, Zhang X, Hayat K, Liu P, Jia C, Xia S, et al. Formation of the beef flavour precursors and their correlation with chemical parameters during the controlled thermal oxidation of tallow. *Food Chem.* 2011; 124(1):203–209. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.010>