

## ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TERNEZA Y MARMOREO EN NOVILLOS BRAFORD. COMUNICACIÓN

*Genome-wide association analysis for tenderness and marbling in Braford steers. Communication*

**Coria, M.S.<sup>1,2,3\*</sup>, Reineri, P.S.<sup>3,4</sup>, Tonhati, H.<sup>5</sup> y Palma, G.A.<sup>1,2,3</sup>**

Laboratorio de Producción Animal, INBIONATEC.

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Facultad de Agronomía y Agroindustrias (FAyA), Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Santiago del Estero

Estación Experimental Agropecuaria Santiago del Estero, Campo Experimental Francisco Cantos, INTA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal (UNESP), Brasil.

### RESUMEN

La terneza y el marmoreo de la carne son considerados los atributos de calidad más importantes para los consumidores. Los estudios de asociación genómica amplia (GWAS: *Genome-wide association study*) informan sobre la asociación entre variantes génicas responsables parcialmente de la variabilidad genética del carácter y “polimorfismos de base única” (SNPs: *single nucleotide polymorphisms*), posibilitando la construcción de bibliotecas de genes que auxiliarán en el proceso de selección. El objetivo de este trabajo fue evaluar la asociación entre los caracteres de terneza y marmoreo con distintos SNPs mediante un análisis GWAS estándar. Para ello se empleó la metodología “single-step” y los análisis fueron procesados con los programas de la familia BLUPF90. Se genotiparon 30 novillos de raza Braford con un chip de 49.463 SNPs (GeneSeek® Genomic Profiler™ Bovine 50K). Después del control de calidad quedaron 28 animales y 40.241 SNPs. Los resultados del GWAS se presentaron mediante la proporción de varianza explicada por ventanas de 15 SNP adyacentes, considerándose 5 ventanas de SNPs con mayor varianza genética aditiva para cada característica analizada. En cuanto al carácter terneza, evaluado como resistencia a la fuerza de corte con la cuchilla de Warner-Bratzler, se identificaron genes relacionados con el metabolismo de los ácidos grasos que explicaron el 3,88% de la varianza genética. Para la característica marmoreo, evaluada como el contenido de grasa intramuscular, se destacaron genes involucrados en la vía de los receptores olfatorios, vía de componentes integrales de la membrana y de señalización, los que explicaron el 10,95% de la varianza genética. Si bien los resultados obtenidos podrían contribuir a mejorar el conocimiento sobre la estructura genética que subyace la producción de carne de calidad, es necesario profundizar estos análisis con un mayor número de animales para mejorar la potencia estadística de los resultados obtenidos. **Palabras clave.** asociación genómica amplia, SNP, terneza, marmoreo, Braford.

### SUMMARY

Meat tenderness and marbling are considered the most important quality attributes for consumers. Genome-wide association study (GWAS) allow the discovery of single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with genes that determine these characteristics, enabling the construction of gene libraries that will help in the selection process. The goal of this research was to evaluate associations between SNPs with meat tenderness and marbling attributes by means of GWAS. Thirty Braford steers were genotyped with GeneSeek® Genomic Profiler™ Bovine 50K chip (49,463 SNPs). After quality control, data on 28 animals and 40,241 SNPs remained. The GWAS analyses were conducted using single-step GBLUP methodology through the software BLUPF90. The analyses consisted on detecting the proportion of variance explained by windows of 15 adjacent SNPs. The five windows of SNPs with the greatest additive genetic variance were considered for each characteristic analyzed. For tenderness measured as Warner-Bratzler shear force, the variants related to fatty acid metabolism explained 3.88% of the genetic variance. Marbling was measured as intramuscular fat content. Genes involved in the pathway of the olfactory receptors and integral components of the membrane via signaling, explained 10.95% of the genetic variance. The results here obtained widen the knowledge on the genetic structure underlying the production of quality meat. Nevertheless, data on a large amount of animals are needed to improve the power of the analysis.

**Key words.** GWAS, SNP, tenderness, Marbling, Braford.

Recibido: febrero de 2019

Aceptado: abril 2020

<sup>1</sup> Lab. Prod. Animal, INBIONATEC, RN 9, Km 1125, Villa El Zanjón, Santiago del Estero, Argentina G4206XCP. \*E-mail: sumicoria@gmail.com

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rivadavia 1917, Buenos Aires, Argentina, C1033AAJ.

<sup>3</sup> Facultad de Agronomía y Agroindustrias (FAyA), Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Santiago del Estero, Argentina G4206XCP.

<sup>4</sup> Estación Experimental Agropecuaria Santiago del Estero, Campo Experimental Francisco Cantos, INTA, RN 9 Km 1108, La Abrita, Santiago del Estero, Argentina, G4206XBK.

<sup>5</sup> Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal (UNESP), SP, Brasil, 14884900.

## Introducción

La asociación entre marcadores polimórficos de base única (SNPs: *Single nucleotide polymorphisms*) con variantes génicas para distintos caracteres es llamada "análisis de asociación en todo el genoma" (GWAS: *Genome-wide association study*) y permite identificar variantes genéticas asociadas con características de interés económico (Visscher et al., 2012). Se han realizado distintos estudios de asociación utilizando marcadores con características ligadas a la calidad de la carne en *Bos taurus* (Bolormaa et al., 2011, Miller et al., 2014 y Akanno et al., 2014), como también en *Bos indicus* (Tizoto et al., 2013, Cesar et al., 2014 y Magalhães et al., 2016). Estos estudios posibilitaron la identificación de diversas regiones del cromosoma asociadas a características de calidad de la carne. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio GWAS para identificar regiones del genoma asociadas a las características de calidad de carne en animales de raza Braford.

## Materiales y Métodos

### Determinaciones fenotípicas

El estudio se realizó en un rodeo comercial en la provincia de Santiago del Estero, norte de Argentina (S 27° 17'34,3" - W 62° 15'14,1"). Los animales fueron manejados y faenados siguiendo los protocolos de Bienestar Animal del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA). Se seleccionaron 30 novillos Braford alimentados con pasturas de verano (*Megathyrus maximus*), los cuáles fueron sacrificados a los 25 meses de edad en un frigorífico comercial.

Se evaluaron los atributos resistencia a la fuerza de corte con la cuchilla de Warner-Bratzler y el contenido de grasa intramuscular. La resistencia a la fuerza de corte se determinó mediante una cizalla de Warner Bratzler en bifés de 2,5 cm de espesor. Las muestras se cocinaron en grill eléctrico hasta alcanzar una temperatura interna de 71 °C. Después de la cocción, los bifés se enfriaron a temperatura ambiente durante 30 min y a 4 °C durante 24 h. De cada bife se cortaron 8 cilindros de 1,3 cm de diámetro, de forma paralela a las fibras musculares, cada uno de los cuales fue sometido a la acción del texturometro TA.XT Plus con el accesorio de Warner-Bratzler, en sentido transversal a las fibras musculares. Los tarugos fueron colocados debajo de una cuchilla que contiene una hendidura en forma de V, y el test se realizó con una velocidad de 2,0 mms-1 (pre-test), 2,0 mms-1 (test), 10,0 mms-1 (post-test). Se consideró la media de 6 lecturas de fuerza de cizalla hechas para cada bife. El contenido de grasa intramuscular se determinó por duplicado según el método de Soxhlet AOAC (AOAC 1992), mediante destilación continua con hexano a partir de 5g de carne, utilizando un equipo SoxtecSystem HT 1043 Extraction Unitmarca Tecator (Sweden) para la extracción de grasa y una estufa ORL – Hornos eléctricos modelo NZ-1105 (Argentina).

### Determinaciones genotípicas

#### Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN a partir de tejido muscular siguiendo el protocolo de extracción con solventes orgánicos descrito por Sambrook et al. (2001). Se determinó la concentración e integridad del ácido nucleico, mediante espectrofotometría y electroforesis en geles de agarosa.

#### Edición de datos genómicos

Los animales fueron genotipados con *GeneSeek® Genomic Profiler™ Bovine 50K*, un chip de 49.463 SNPs que asigna los genotipos de cada SNP, basado en las diferencias de la señal y la intensidad del color. Se realizó un control de calidad de los SNPs y de las muestras. Los criterios de exclusión utilizados en el presente estudio para los marcadores fueron: marcadores no autosómicos y con la misma posición, frecuencia del alelo menos frecuente (MAF) ≤ 0,02, p-valor para el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) ≤ 10<sup>-5</sup> y eficiencia de genotipificación (*call rate*) < 0,95. A su vez, las muestras con *call rate* < 0,88 fueron también excluidas.

### Análisis de asociación genómica amplia

Para determinar el grado de asociación entre los marcadores y las características evaluadas, se utilizó la metodología GWAS propuesta por (Wang et al., 2012), basada en el método de *single-step genomic-BLUP* (ssGBLUP) desarrollado por Legarra et al. (2014). Para ello se ajustó el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y = X\beta + Z\alpha + e$$

donde  $Y$  es el vector de las observaciones fenotípicas;  $X$  la matriz de incidencia que relaciona los fenotipos con los efectos fijos,  $\beta$  es el vector de los efectos fijos;  $Z$  es la matriz de incidencia que relaciona los animales con los fenotipos;  $\alpha$  es el vector de efectos aleatorios y  $e$  es el vector de los errores. Se asumieron las siguientes varianzas de  $\alpha$  y  $e$ :

$$\text{Var} \begin{bmatrix} \alpha \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G \sigma_{\alpha}^2 & 0 \\ 0 & I \sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

donde:  $\sigma_{\alpha}^2$  es la varianza genética aditiva directa y  $\sigma_e^2$  es la varianza de los errores;  $I$  es la matriz de identidad de orden igual al número de fenotipos, y  $G$  es la matriz genómica de VanRaden (2008) e igual a:

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum_{j=1}^m p_j(1 - p_j)}$$

donde  $Z$  se obtiene de la resta ( $M - P$ ). La matriz  $M$  contiene los genotipos, y sus columnas representan marcadores, mientras que las filas se asocian con los animales. Cada elemento en  $M_{ij}$  se codificó como 0, 1 o 2 si el genotipo  $i$  individual para SNP $_j$  era homocigoto para el primer alelo, heterocigoto u homocigoto para el segundo alelo, respectivamente.  $P$  es la matriz que contiene la frecuencia del segundo alelo  $p_j$ , expresada como  $2p_j$ . Los análisis fueron procesados con los programas de la familia Blup.f90 (Misztal et al., 2015).

A su vez se determinó el grado de significancia de los SNPs para cada característica según lo propuesto por Costa et al. (2015):

$$BF = \frac{\left(\frac{p}{1-p}\right)}{\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right)}$$

donde BF es el Factor Bayesiano,  $p$  es la probabilidad posterior de que a un SNP se le asigne un efecto distinto de cero y  $\pi$  es la probabilidad *a priori* de que un SNP se incluya en el análisis. Se utilizó la siguiente escala aplicada en la detección QTL por Vidal et al. (2005):

- \* si BF varía entre 3 y 20, proporcionan evidencia sugestiva;
- \* si BF varía entre 20 y 150, proporcionan fuerte evidencia;
- \* si el BF es mayor que 150, proporcionan muy fuerte evidencia.

### Mapeo de genes y análisis funcional In-Silico

Las regiones de los SNPs que resultaron significativas fueron inspeccionadas para la identificación de posibles lugares (*loci*) de variabilidad para un carácter cuantitativo (QTLs: *quantitative trait loci*) y genes candidatos ubicados dentro o en los alrededores de cada región de interés a una distancia de 1 Mb, usando bases de datos de dominio público como el Centro de Información Biotecnológica de los Estados Unidos (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y *Ensembl Genome Browser* (<http://www.ensembl.org/index.html>). La base de datos *AnimalQTLdb* (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>) fue empleada para verificar la existencia de QTL asociados con características de calidad de carne, reportados previamente en las regiones circundantes de los SNPs significativos identificados en este estudio.

El análisis funcional de los genes mapeados se realizó por medio del sitio web de *UniProt* (<http://www.uniprot.org/>) y de *GeneCards*® (<http://www.genecards.org/>). Los mismos se usaron para verificar la información funcional de los genes; cuando no se encontró información disponible para genes *Bos taurus*, se usaron anotaciones de genes ortólogos en humanos, ratas o ratones para proceder con el análisis funcional *in-silico*, que permitió definir una lista de genes localizados dentro o en las proximidades de las regiones de interés. Finalmente con esta información se llevó a cabo un análisis de vías de enriquecimiento de genes mediante la Base de Datos para Anotación, Visualización y Descubrimiento Integrado (DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery) (Huang, et al., 2009a; Huang et al., 2009b).

## Resultados y Discusión

### Determinaciones fenotípicas

El valor de fuerza de corte de Warner Bratzler (WBSF) en el músculo *longissimus dorsi* de los novillos Braford fue  $68,17 \pm 13,92$  N (media  $\pm$  desvío estándar) y el contenido de grasa intramuscular  $2,85 \pm 1,47$  g/100 g músculo.

### Determinaciones genotípicas

Se evaluaron 49.463 SNPs incluidos en el GeneSeek® Genomic Profiler™ Bovine 50K y 30 novillos Braford. Luego del proceso de control de calidad, se obtuvieron 40.241 SNP efectivos y 28 animales. En el presente estudio la varianza de cada SNP se expresó como el porcentaje de la varianza genética aditiva total explicada por cada SNP. Para mejorar la capacidad de diferenciar entre marcadores con grandes efectos y los que tienen efectos pequeños se definieron ventanas de 15 SNP adyacentes, y la varianza explicada por estas ventanas se usó para elaborar los gráficos conocidos como "Manhattan Plots".

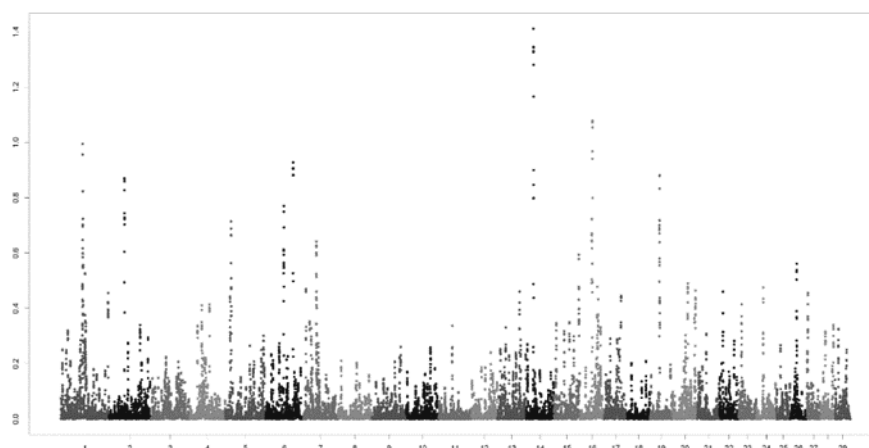
### Varianza genética asociada a la terneza

En la Figura 1 se muestra la proporción de varianza genética (%gVar) explicada por ventanas de 15 SNPs contiguos dentro de un mismo cromosoma para la resistencia a la fuerza de corte. Estas ventanas no presentan solapamientos ni son repetitivas (Wang et al., 2014).

Para la característica Resistencia a la fuerza de corte con la cuchilla de Warner-Bratzler, se hallaron cinco regiones con mayor efecto en los cromosomas 1, 6, 14, 16 y 19. Previamente, se encontraron QTLs relacionados con la fuerza de corte y con la terneza de la carne, en los cromosomas 6 y 14, y QTLs asociados con el contenido de grasa intramuscular en los cromosomas 6, 14 y 19 (Magalhães et al., 2016). Debe recordarse que el contenido de grasa influye en la resistencia a la fuerza de corte (Girard et al., 2012). Se encontró que el rasgo evaluado mostró variabilidad asociada con QTLs de pequeño efecto, no detectándose genes de efecto considerable, tal como es el caso de CAPN1 y CAST en ganado taurino (Casas et al., 2006). Las regiones descritas codifican 114 genes enumerados en el Cuadro 1.

La lista de genes fue analizada utilizando la base de datos DAVID, identificándose las vías de enriquecimiento de genes para el carácter terneza. Se hallaron 28 vías, de las cuales cinco resultaron de interés por su posible relación con la terneza de la carne: la ruta metabólica del ácido linoleico y oxidoreductasas (6 genes) y las respuestas a los estímulos de 11-desoxicorticosterona, mineralocorticoides y la deshidroepiandrosterona (4 genes) (Cuadro 2).

La proteína codificada por el gen *BDH1*, (3-hidroxiacetil-CoA deshidrogenasa tipo 1) cataliza la interconversión de cuerpos cetónicos producidos durante el catabolismo de los ácidos grasos. La cetogénesis se produce principalmente en la matriz mitocondrial de las células del hígado, y es importante porque proporciona energía para los tejidos circundantes, especialmente los músculos cardíaco y esquelético. Se ha reportado que este gen muestra efecto magnificado en novillos Nellore con menor eficiencia de consumo alimentario (Tizioto et al., 2017). Mientras que en animales de la misma raza, con perfiles extremos de ácidos grasos, la expresión del gen *BDH1* es más intensa en los novillos con ácidos grasos saturados respecto a los animales con ácidos grasos



**Figura 1.** Manhattan plot para Resistencia a la fuerza de corte con la cuchilla de Warner-Bratzler. Proporción de varianza genética explicada por ventanas de 15 SNPs adyacentes (eje y) por cromosoma (eje x).

**Figure 1.** Manhattan plot for Warner-Bratzler shear force. Proportion of genetic variance explained by windows of 15 adjacent SNPs (y axis) per chromosome (x axis).

**Cuadro 1.** Identificación de los genes según ID de *Ensembl*, cromosoma y posibles genes candidatos posicionales identificados para la característica terneza.

**Table 1.** *Ensembl* ID, chromosome and possible positional candidate genes identified for meat tenderness.

Gen ID	Crom	PGC	Gen ID	Crom	PGC
ENSBTAG00000000448	1	BDH1	ENSBTAG00000001071	19	WRAP53
ENSBTAG00000002998		MELTF	ENSBTAG00000001702		TMEM107
ENSBTAG00000006388		FBXO45	ENSBTAG00000001717		AURKB
ENSBTAG00000008873		NCBP2	ENSBTAG00000002018		EIF5A1
ENSBTAG00000009614		NRROS	ENSBTAG00000002564		DLG4
ENSBTAG00000011659		PIGZ	ENSBTAG00000003072		ACADVL
ENSBTAG00000013192		CEP19	ENSBTAG00000003075		DVL2
ENSBTAG00000013319		SMCO1	ENSBTAG00000003889		PER1
ENSBTAG00000014660		WDR53	ENSBTAG00000003891		VAMP2
ENSBTAG00000020378		DLG1	ENSBTAG00000004222		SAT2
ENSBTAG00000032674		SENP5	ENSBTAG00000004226		SHBG
ENSBTAG00000043278		U6	ENSBTAG00000005461		SOX15
ENSBTAG00000045354		ACA64	ENSBTAG00000005462		FXR2
ENSBTAG00000047856		PAK2	ENSBTAG00000007117		CTC1
ENSBTAG00000048195		PIGX	ENSBTAG00000008289		ZBTB4
ENSBTAG00000002632		6	CSN2		ENSBTAG00000008605
ENSBTAG00000002928	AMTN		ENSBTAG00000008773	GUCY2D	
ENSBTAG00000004793	AMBN		ENSBTAG00000008779	ALOX15B	
ENSBTAG00000006810	ODAM		ENSBTAG00000009126	YBX2	
ENSBTAG00000007695	CSN1S1		ENSBTAG00000009190	SLC2A4	
ENSBTAG00000008577	GRSF1		ENSBTAG00000010513	GPS2	
ENSBTAG00000009310	UTP3		ENSBTAG00000010527	ACAP1	
ENSBTAG00000010346	ENAM		ENSBTAG00000010532	KCTD11	
ENSBTAG00000011952	SULT1E1		ENSBTAG00000012436	HES7	

ENSBTAG00000016290		MOB1B	ENSBTAG00000012475		ALOX12B
ENSBTAG00000016795		RUFY3	ENSBTAG00000012478		ALOXE3
ENSBTAG00000018531		JCHAIN	ENSBTAG00000013680		ATP1B2
ENSBTAG00000019849		CABS1	ENSBTAG00000014377		CHD3
ENSBTAG00000039787		CSN3	ENSBTAG00000014693		TMEM88
ENSBTAG0000004022		PLAG1	ENSBTAG00000014695		NAA38
ENSBTAG00000005893		TMEM68	ENSBTAG00000014696		CYB5D1
ENSBTAG00000005898		TGS1	ENSBTAG00000014881		PHF23
ENSBTAG00000018570		SDR16C5	ENSBTAG00000014883		GABARAP
ENSBTAG00000019145		MOS	ENSBTAG00000014940		KCNAB3
ENSBTAG00000019147	14	RPS20	ENSBTAG00000017739		TNK1
ENSBTAG00000020034		LYN	ENSBTAG00000017747		PLSCR3
ENSBTAG00000028889		U1	ENSBTAG00000018808		SLC25A35
ENSBTAG00000033284		CHCHD7	ENSBTAG00000018809		RANGRF
ENSBTAG00000044050		XKR4	ENSBTAG00000019241		FGF11
ENSBTAG00000045097		snoU54	ENSBTAG00000019242		CHRN1
ENSBTAG00000001361		NMNAT1	ENSBTAG00000019443		CTDN1
ENSBTAG00000003177		SLC25A33	ENSBTAG00000019446		ELP5
ENSBTAG00000003180		TMEM201	ENSBTAG00000019448		CLDN7
ENSBTAG00000004966		KIF1B	ENSBTAG00000020252		NLGN2
ENSBTAG00000005933		CTNNBIP1	ENSBTAG00000020253		SPEM1
ENSBTAG00000010401		UBE4B	ENSBTAG00000020688		ARHGEF15
ENSBTAG00000011823		CLSTN1	ENSBTAG00000029812		bta-mir-324
ENSBTAG00000013527		PGD	ENSBTAG00000031509		PFAS
ENSBTAG00000013531	16	CENPS	ENSBTAG00000031725		TNFSF12
ENSBTAG00000013538		PEX14	ENSBTAG00000031737		TMEM102
ENSBTAG00000015574		RBP7	ENSBTAG00000037604		EFNB3
ENSBTAG00000018984		PIK3CD	ENSBTAG00000042836		SNORA48
ENSBTAG00000019818		CASZ1	ENSBTAG00000042868		SNORA67
ENSBTAG00000036516		5S_rRNA	ENSBTAG00000043025		U6
ENSBTAG00000042532		U6	ENSBTAG00000043508		U8
ENSBTAG00000045105		SNORD77	ENSBTAG00000044837		SCARNA21
ENSBTAG00000046494		CORT	ENSBTAG00000044856		SNORD10
ENSBTAG00000000130		TNFSF13	ENSBTAG00000045293		SNORA48
ENSBTAG00000000132		EIF4A1	ENSBTAG00000046765		POLR2A
ENSBTAG00000000133	19	CD68	ENSBTAG00000047214		TRAPPC1
ENSBTAG00000000134		MPDU1	ENSBTAG00000047756		CNTROB
ENSBTAG00000001069		TP53	ENSBTAG00000048062		KDM6B

insaturados (Berton et al., 2016). El gen *PDG* (fosfogluconato deshidrogenasa) fue asociado con características de color en gallinas (Sun et al., 2013) y con el marmoreo de la carne en el ganado Nellore (Magalhães et al., 2016). En el presente trabajo, se sugiere que menos de uno (0,99) % de la varianza

en ternera es explicada por *BDH1* mientras que *PDG* explica 1,08% (Cuadro 2).

Los genes *ALOXE3*, *ALOX12B*, *ALOX15B*, *ACADVL*, *BDH1* y *PGD* están asociados con las vías de enriquecimiento del metabolismo del ácido linoleico y de las oxidoreductasas. Los

**Cuadro 2.** Identificación de posibles genes candidatos posicionales, según la varianza genética explicada por ventanas de 15 SNPs.  
**Table 2.** Identification of possible positional candidate genes, according to the genetic variance explained by windows of 15 SNPs.

Característica	Crom	Posición (pb)	Varianza	Genes
<b>Resistencia a la fuerza de corte con la cuchilla de WB (WBSF)</b>	1	71616599....72616599	0,99457	BDH1
	6	87012322....88012322	0,92759	CSN1S1, CSN1S2, CSN2, CSN3
	14	24149092....25149092	1,41105	
	16	43788030....44968952	1,07882	PGD
	19	27544525....28544525	0,88129	ALOX12B, ALOX15B, ALOXE3, ACADVL
<b>Contenido de grasa intramuscular</b>	5	31558255....32406215	1,74972	LOC101902265, LOC507383, LOC504567, LOC523258, LOC509817, LOC781968, LOC515887, LOC506992, LOC617388, LOC781446, OR8S1, OR10AD1
	7	51739128....53124827	5,56041	LRRTM2, CTNNA1
	9	45729853....46668612	1,38435	
	17	55907275....56650793	1,32527	P2RX7, P2RX4, ATP2A2
	28	45870946....46244776	2,31903	AGT

genes de la familia ALOX (lipoxigenasa araquidónica) son un grupo de lipoxigenasas que catalizan la oxigenación de ácidos grasos poliinsaturados. Los lípidos oxigenados pueden iniciar reacciones biológicas que activan mecanismos de señalización celular o pueden metabolizarse en potentes mediadores de lípidos (Mashima y Okuyama 2015). Aunque los mecanismos exactos por los cuales los ácidos grasos poliinsaturados ejercen sus efectos no se comprenden completamente, varios factores de transcripción y receptores nucleares fueron considerados reguladores críticos de varios genes importantes del metabolismo lipídico. Algunos de estos activadores son productos de las reacciones de las lipoxigenasas y promueven la diferenciación de las células madre mesenquimales en adipocitos (Xiao et al., 2011). Por otro lado, el silenciamiento del gen *ALOX15B* en humanos resultó en una atenuación de la acumulación de lípidos, sugiriendo su funcionalidad en la absorción de lípidos en las células (Mashima y Okuyama 2015). También se han asociado polimorfismos del gen *ALOX12* con el contenido y el porcentaje total de grasa en humanos (Xiao et al., 2011).

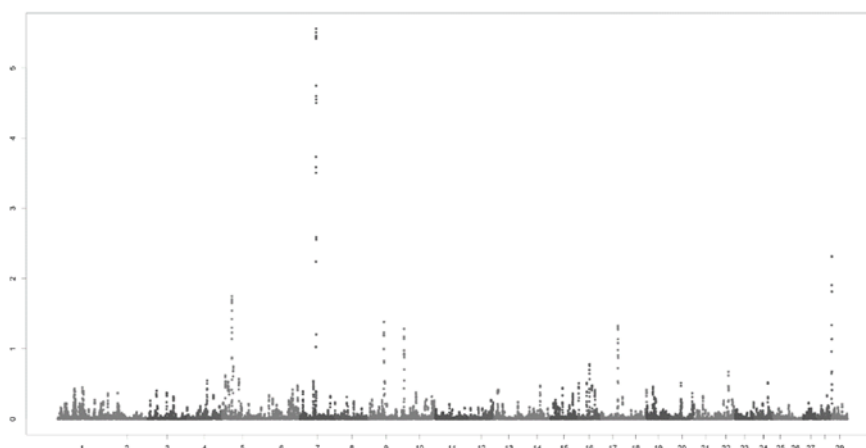
El *ACADVL*, gen de la acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga, cataliza la primera etapa de la vía de oxidación  $\beta$ -mitocondrial de los ácidos grasos en el músculo (He et al., 2007). Se ha determinado que la expresión de este gen varía en grupos de animales con fenotipos diferencial en el contenido de ácidos grasos (Puig-Oliveras et al., 2014). Además, se ha demostrado que la deficiencia del gen *ACADVL* en humanos produce una oxidación defectuosa de los ácidos grasos; y que los ratones *knock-out* para este gen, alimentados en dieta con alto contenido de grasa, presentaron una disminución en el contenido de grasa corporal total (Chegary et al., 2009). En un estudio reciente, se ha determinado que polimorfismos de este gen producen

diferencias en características corporales de razas bovinas (Zhang et al., 2015). En nuestro estudio, los genes *ALOX* y el *ACADVL* explicaron 0,88% de la varianza de la terneza (Cuadro 2).

En las rutas de respuesta a los estímulos de 11-desoxicorticosterona, mineralocorticoides y la deshidroepiandrosterona se encuentran los genes *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN1S2* y *CSN3* (AlphaS1, AlphaS2, Beta, y Kappa caseínas). En el presente trabajo los polimorfismos de estos genes explicaron 0,93 % de la varianza aditiva para la característica resistencia a la fuerza de corte (Cuadro 2). Si bien se observó que ciertos polimorfismos en estos genes se asociaron con el contenido de grasa en leche (Casas y Kehrlí 2016), también se reportaron asociaciones entre los citados genes y el contenido de grasa en diferentes razas bovinas (White et al., 2007; Bennett et al., 2013). Las funciones y asociaciones que se han encontrado con los genes previamente mencionados y los atributos de calidad de carne, podrían sugerir que los genes mencionados influyen sobre la variabilidad genética en terneza.

#### **Varianza genética asociada al contenido de grasa intramuscular**

En la Figura 2 se muestra la proporción de varianza genética (%gVar) explicada por ventanas de 15 SNPs contiguos dentro de un mismo cromosoma, basado en el método de GWAS para el contenido de grasa intramuscular. Las 5 regiones con mayor efecto para el atributo contenido de grasa intramuscular se encuentran en los cromosomas 5, 7, 9, 17 y 28. En los cromosomas 5 y 28 se encontraron QTLs relacionados con el marmoreo de la carne y el contenido de grasa (Saatchi et al., 2013; Magalhães et al., 2016). Las regiones descritas codifican para 61 genes enumerados en el Cuadro 3. El análisis de enriquecimiento con la **base de**



**Figura 2.** Manhattan plot para contenido de grasa intramuscular. Proporción de varianza genética explicada por ventanas de 15 SNPs adyacentes (eje y) por cromosoma (eje x).

**Figure 2.** Manhattan plot for intramuscular fat content. Proportion of genetic variance explained by windows of 15 adjacent SNPs (y axis) per chromosome (x axis).

datos DAVID para el contenido de grasa intramuscular permitió la identificación de 20 vías de enriquecimiento; cuatro de ellas fueron analizadas en el presente trabajo debido a su relación con el atributo: la vía de los receptores olfatorios (12 genes), la de actividad del receptor acoplado a proteína G (12 genes), la de los componentes integrales de la membrana (17 genes) y una vía de señalización (1 gen) (Cuadro 2).

Se identificaron 12 genes asociados a las tres primeras vías de enriquecimiento nombradas, que podrían explicar el 1,75 % de la varianza, los cuales actúan como receptores olfatorios (LOC101902265, LOC507383, LOC504567, LOC523258, LOC509817, LOC781968, LOC515887, LOC506992, LOC617388, LOC781446, OR8S1, OR10AD1) (Cuadro 2). Este grupo de genes participa en el cambio del GDP (guanosina difosfato) a GTP (guanosina trifosfato), actuando como reguladores de las proteínas G. GDP y GTP pueden ser utilizados como fuente de energía y son responsables de la transferencia de energía dentro de la célula (Russell et al., 2014). Otra explicación del efecto de los receptores olfatorios sobre los atributos de calidad de carne es su acción en el duodeno, donde promueven la absorción de ácidos grasos, aumentando la acumulación de grasa (Primeaux et al., 2013). Además, se sabe que estos receptores olfatorios actúan sobre el tejido adiposo y en la diferenciación de los adipocitos, aumentando la acumulación de grasa (Von Der Heyde et al., 2014). Algunos estudios también sugieren que los receptores olfatorios están involucrados en la ingesta de alimentos debido a su acción conocida sobre las neuronas olfatorias, aumentando la búsqueda de alimentos y la ingesta de alimentos (Loch et al., 2013), y consecuentemente el aumento de peso y la acumulación de grasa. En el trabajo de Magalhães et al. (2016) se encontró asociación similar entre los genes citados y el marmoreo de la carne en animales de raza Nellore. Los receptores olfatorios están implicados en la percepción de olores, sin embargo no se puede descartar que

ejercen otras funciones en el organismo como se mencionó anteriormente. Por lo tanto, es necesario realizar nuevos estudios específicos que demuestren el verdadero papel de este grupo de genes en el metabolismo de los lípidos.

La vía de enriquecimiento de componentes integrales de membrana, involucra los 12 genes previamente nombrados, como así también los genes: *LRRTM2*, *CTNNA1*, *P2RX7*, *P2RX4*, *ATP2A2*. El gen *LRRTM2*, codifica la proteína transmembrana neuronal 2 rica en repeticiones de leucina, y participa en el desarrollo y mantenimiento de la sinapsis excitatoria en el sistema nervioso vertebrado. En un estudio reciente la expresión del gen *LRRTM2* fue mayor en los animales que tenían menor contenido de grasa intramuscular (González-Calvo et al., 2017). El gen *CTNNA1*, de la alfa catenina 1, se asocia con el dominio citoplasmático de una variedad de cadherinas. La asociación entre cateninas y cadherinas produce un complejo que está ligado a la red de filamentos de actina, y que parece ser de primordial importancia para las propiedades de adhesión celular (Wheelock y Knudsen 1991). Este gen ha sido asociado con el porcentaje de grasa en leche en el ganado Holstein-Friesian y Jersey (Raven et al., 2014). En el presente trabajo, se sugiere que los polimorfismos de los genes *LRRTM2* y *CTNNA1* podrían explicar el 5,56% de la varianza del marmoreo, sin embargo aún no se ha establecido una relación directa de los mismos con dicha característica (Cuadro 2).

Los receptores purinérgicos *P2X4* y *P2X7*, son miembros de la familia de canales iónicos que se abren en respuesta al ATP extracelular. Mutaciones en estos genes han sido asociadas con anormalidades en el metabolismo de la glucosa en humanos y ratones (Todd et al., 2015). Inclusive el gen *P2X7* ha sido asociado con la diabetes, debido a su influencia en la regulación de las células beta (Glas et al., 2009). Por otro lado, el gen de la ATPasa sarco/endoplasmática transportadora 2, *ATP2A2*, ha sido asociado con la ternura, la jugosidad y el flavor de la carne en el ganado bovino (Bernard

et al., 2007). Algunos estudios sugieren que este gen podría actuar en la regulación de los procesos biológicos que conducen al desarrollo del marmoreo, y que su sobre regulación conduce a una mayor deposición de grasa intramuscular (Puig-Oliveras et al., 2014; Sadkowski et al., 2014). Este grupo de genes involucrado en la homeostasis de la glucosa y la energía, podría explicar el 1,32 % del contenido de grasa intramuscular de la carne (Cuadro 2).

El gen de la angiotensina, *AGT*, es un importante producto secretor del hígado y de los adipocitos. La angiotensina es

considerada un factor trófico en el crecimiento y desarrollo del tejido adiposo. Se ha demostrado, que la *AGT* inhibe la diferenciación de adipocitos en diferentes modelos experimentales (Lu et al., 2007). Un estudio realizado con ganado bovino Coreano, encontró que la expresión de *AGT* se correlaciona negativamente con el contenido de grasa intramuscular (Kim et al., 2011). En el presente trabajo, las mutaciones en este gen podrían explicar el 2,32% de la varianza total del contenido de grasa intramuscular (Cuadro 2).

**Cuadro 3.** Identificación de los genes según ID de *Ensembl*, cromosoma y posibles genes candidatos posicionales identificados para la característica contenido de grasa intramuscular.

**Table 3.** *Ensembl ID, chromosome and possible positional candidate genes identified for intramuscular fat content.*

Gen ID	Crom	PGC	Gen ID	Crom	PGC
ENSBTAG0000000286	5	PFKM	ENSBTAG00000042790	7	U6
ENSBTAG0000000289		ASB8	ENSBTAG00000044898		SNORA74
ENSBTAG00000002390		CCDC184	ENSBTAG00000046926		GPX4
ENSBTAG00000012423		SENP1	ENSBTAG00000001533	9	HACE1
ENSBTAG00000013155		COL2A1	ENSBTAG00000042209		U6
ENSBTAG00000016496		ZNF641	ENSBTAG00000001398	17	ATP2A2
ENSBTAG00000016996		C5H12orf54	ENSBTAG00000002315		RNF34
ENSBTAG00000032429		OR10AD1	ENSBTAG00000002328		KDM2B
ENSBTAG00000038670		OR8S1	ENSBTAG00000003092		ANAPC5
ENSBTAG00000000238		7	PSD2		ENSBTAG00000004457
ENSBTAG00000002286	DNAJC18		ENSBTAG00000004458		MORN3
ENSBTAG00000002296	TMEM173		ENSBTAG00000005347		GPN3
ENSBTAG00000003986	CXXC5		ENSBTAG00000008417		VPS29
ENSBTAG00000004161	UBE2D3		ENSBTAG00000008948		P2RX7
ENSBTAG00000008224	PAIP2		ENSBTAG00000009208		TCTN1
ENSBTAG00000008881	PURA		ENSBTAG00000009216		HVCN1
ENSBTAG00000010689	NRG2		ENSBTAG00000009602		TMEM120B
ENSBTAG00000010798	SLC23A1		ENSBTAG00000010812		P2RX4
ENSBTAG00000014182	CTNNA1		ENSBTAG00000010815		CAMKK2
ENSBTAG00000014192	LRRTM2		ENSBTAG00000018330		RAD9B
ENSBTAG00000016595	CYSTM1		ENSBTAG00000018332		PPTC7
ENSBTAG00000016596	PFDN1		ENSBTAG00000020584		IFT81
ENSBTAG00000017957	SPATA24		ENSBTAG00000022067	FAM216A	
ENSBTAG00000025226	IGIP		ENSBTAG00000003546	28	TFAM
ENSBTAG00000029283	5S_rRNA		ENSBTAG00000012393		AGT
ENSBTAG00000030518	ECSCR		ENSBTAG00000016191		ZNF32
ENSBTAG00000030520	PROB1	ENSBTAG00000019039	ZNF239		
ENSBTAG00000033747	SIL1	ENSBTAG00000020314	COG2		
ENSBTAG00000038337	MZB1	ENSBTAG00000045503	5S_rRNA		
ENSBTAG00000042256					



Se debe resaltar que se han encontrado inconsistencias entre los resultados reportados para características similares. Por ejemplo, es muy frecuente que un SNP detectado como significativo para una característica dada en una raza o población específica, resulte no significativo en otra población evaluada para la misma característica. La no coincidencia de asociación puede deberse a tres razones: 1) el descubrimiento original fue un falso positivo, 2) la asociación es específica de esa raza, ya sea porque el QTL no segrega en otra raza o porque el grado de LD es diferente entre razas, o 3) existe escasa potencia estadística en el análisis realizado, sea en la población donde se encontró la asociación o en la población donde se quiere validar, o en ambas. Esto puede deberse a múltiples factores, como el tamaño de la población, la densidad de los marcadores (SNP) utilizada, la estructura genética de la población, la elección de los modelos estadísticos, así como los errores tipo I y II (Zhang et al., 2012). En tal sentido, se debe resaltar que el tamaño de la población estudiada es muy pequeño, y que por lo tanto la potencia del estudio es baja ( $BF < 20$ ). Para mejorar este tipo de problemas se requiere un tamaño de población más grande y/o una mayor densidad de los marcadores (SNPs).

## Conclusiones

En análisis exploratorio realizado con 30 novillos permitió identificar regiones genómicas asociadas con características de calidad de carne para la raza Braford (QTL), que se ubicaron en ventanas de 15 SNPs. Se localizaron 175 posibles genes candidatos posicionales, en regiones localizadas en los cromosomas 1, 6, 14, 16 y 19 para la terneza y 5, 7, 9, 17 y 28 para marmoreo; se identificaron SNPs ubicados cerca de genes que tienen un rol conocido en el metabolismo de los lípidos y como componentes celulares. La identificación de estas regiones y genes debe validarse en estudios posteriores con un mayor número de animales para su posterior uso en estudios de selección genómica.

## Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a André Vieira do Nascimento y al Dr. Eduardo Alberto Parrellada por su asistencia técnica en las determinaciones realizadas. El presente trabajo fue financiado por el Consejo Federal de Ciencia y Tecnología (COFECyT) [PFIP-ESPRO Vinculado N 032/13], el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica [PICT 1784-2013] y la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo (AUGM) [Beca Escala de Posgrado- Universidad Nacional de Tucumán y Universidade Estadual Paulista].

## Bibliografía

AKANNO, E.C., PLASTOW, G., WOODWARD, B.W., BAUCK, S., OKUT, H., WU, X.L. and BASARAB, J.A. 2014. Reliability of

molecular breeding values for Warner-Bratzler shear force and carcass traits of beef cattle - An independent validation study. *Journal of Animal Science*, 92(7), 2896–2904.

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1992. Official methods of analysis 15th ed. (Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA)
- BENNETT, G.L., SHACKELFORD, S.D., WHEELER, T.L., KING, D.A., CASAS, E. and SMITH, T.P.L. 2013. Selection for genetic markers in beef cattle reveals complex associations of thyroglobulin and casein1-S1 with carcass and meat traits. *Journal of Animal Science*, 91(2), 565–571.
- BERNARD, C., CASSAR-MALEK, I., LE CUNFF, M., DUBROEUCCO, H., RENAND, G. and HOCQUETTE, J.F. 2007. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5229–5237.
- BERTON, M.P., FONSECA, L.F.S., GIMENEZ, D.F. J., UTEMBERGUE, B.L., CESAR, A.S.M., COUTINHO, L.L. y BALDI, F. 2016. Gene expression profile of intramuscular muscle in Nelore cattle with extreme values of fatty acid. *BMC Genomics*, 17(1), 972.
- BOLORMAA, S., PORTO NETO, L.R., ZHANG, Y.D., BUNCH, R.J., HARRISON, B.E., GODDARD, M.E. and BARENDSE, W. 2011. A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. *Journal of Animal Science*, 89, 2297–2309.
- CASAS, E. and KEHRLI, M.E. 2016. A review of selected genes with known effects on performance and health of cattle. *Frontiers in Veterinary Science*, 3(December), 113.
- CASAS, E., WHITE, S. N., WHEELER, T.L., SHACKELFORD, S.D., KOOHMARAIE, M., RILEY, D. G. and SMITH, T.P.L. 2006. Effects of calpastatin and u - calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*, 84, 520–525.
- CESAR, A., REGITANO, L., MOURÃO, G.B., TULLIO, R.R., LANNA, D.P., NASSU, R.T. and COUTINHO, L.L. 2014. Genome-wide association study for intramuscular fat deposition and composition in Nelore cattle, 15, 1–15.
- CHEGARY, M., BRINKE, H. TE, RUITER, J.P.N., WIJBURG, F.A., STOLL, M.S.K., MINKLER, P.E. and HOUTEN, S.M. 2009. Mitochondrial long chain fatty acid beta-oxidation in man and mouse. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1791(8), 806–815.
- COSTA, R.B., CAMARGO, G.M.F., DIAZ, I.D.P.S., IRANO, N., DIAS, M.M., CARVALHEIRO, R., BOLIGON, A.A., BALDI, F., OLIVEIRA, H.F., TONHATI, H. and ALBUQUERQUE, L. 2015. Genome-wide association study of reproductive traits in Nelore heifers using Bayesian inference. *Genetics Selection Evolution*. 47- 67.
- GIRARD, I., BRUCE, H.L., BASARAB, J.A., LARSEN, I.L. and AALHUS, J.L. 2012. Contribution of myofibrillar and connective tissue components to the Warner-Bratzler shear force of cooked beef. *Meat Science*, 92(4), 775–782.

- GLAS, R., SAUTER, N.S., SCHULTHESS, F.T., SHU, L., OBERHOLZER, J. and MAEDLER, K. 2009. Purinergic P2X7 receptors regulate secretion of interleukin-1 receptor antagonist and beta cell function and survival. *Diabetologia*, 52(8), 1579–1588.
- GONZÁLEZ-CALVO, L., DERVISHI, E., JOY, M., SARTO, P., MARTIN-HERNANDEZ, R., SERRANO, M. and CALVO, J.H. 2017. Genome-wide expression profiling in muscle and subcutaneous fat of lambs in response to the intake of concentrate supplemented with vitamin E. *BMC Genomics*, 18(1), 92.
- HE, M., RUTLEDGE, S.L., KELLY, D.R., PALMER, C.A., MURDOCH, G., MAJUMDER, N. and VOCKLEY, J. 2007. A new genetic disorder in mitochondrial fatty acid beta-oxidation: ACAD9 deficiency. *American Journal of Human Genetics*, 81(1), 87–103.
- HUANG, D.W., SHERMAN, B.T., ZHENG, X., YANG, J., STEPHENS, R., LEMPICKI, R.A. and LEMPICKI, R.A. 2009a. Extracting biological meaning from large gene lists with DAVID. *Current Protocols in Bioinformatics*, (SUPPL. 27), 1–13.
- HUANG, D.W., SHERMAN, B.T. and LEMPICKI, R.A. 2009b. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols*, 4(1), 44–57.
- KIM, N. K., LIM, D., LEE, S. H., CHO, Y. M., PARK, E. W., LEE, C. S. and YOON, D. 2011. Heat shock protein B1 and its regulator genes are negatively correlated with intramuscular fat content in the longissimus thoracis muscle of Hanwoo (Korean cattle) steers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5657–5664.
- LEGARRA, A., CHISTENSEN, O.F., AGUILAR, I. and MISZTALI. 2014. Single step, a general approach for genomic selection. *Livest. Prod. Sci.* 166:54–65.
- LOCH, D., HEIDEL, C., BREER, H., STROTMANN, J. and SCHERAG, A. 2013. Adiponectin Enhances the Responsiveness of the Olfactory System. *PLoS ONE*, 8(10), e75716.
- LU, H., BOUSTANY-KARI, C.M., DAUGHERTY, A. and CASSIS, L.A. 2007. Angiotensin II increases adipose angiotensinogen expression. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 292(5).
- MAGALHÃES, A. F. B., DE CAMARGO, G. M. F., FERNANDES, G. A., GORDO, D. G. M., TONUSSI, R. L., COSTA, R. B. and de ALBUQUERQUE, L. G. 2016. Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in Nellore Cattle. *Plos One*, 11(6), e0157845.
- MASHIMA, R. and OKUYAMA, T. 2015. The role of lipoxygenases in pathophysiology; new insights and future perspectives. *Redox Biology*, 6, 297–310.
- MILLER, S., LU, D., VANDER VOORT, G. and MANDELL, I. 2014. Genomic Prediction of Beef Tenderness in Canadian Beef Cattle. In *Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*.
- MISZTAL, I., TSURUTA, S., LOURENCO, D., AGUILAR, I., LEGARRA, A. and VITEZICA, Z. 2015. Manual for BLUPF90 family of programs. *University of Georgia, Athens, USA*, 125.
- PRIMEAUX, S. D., BRAYMER, H. D. and BRAY, G. A. 2013. High Fat Diet Differentially Regulates the Expression of Olfactory Receptors in the Duodenum of Obesity-Prone and Obesity-Resistant Rats. *Dig Dis Sci.*, 58, 72–76.
- PRYCE, J.E., BOLORMAA, S., CHAMBERLAIN, A.J., BOWMAN, P.J., SAVIN, K., GODDARD, M.E. and HAYES, B.J. 2010. A validated genome-wide association study in 2 dairy cattle breeds for milk production and fertility traits using variable length haplotypes. *J Dairy Sci* 93:3331–45.
- PUIG-OLIVERAS, A., RAMAYO-CALDAS, Y., COROMINAS, J., ESTELLÉ, J., PÉREZ-MONTARELO, D., HUDSON, N. J. and BALLESTER, M. 2014. Differences in Muscle Transcriptome among Pigs Phenotypically Extreme for Fatty Acid Composition. *PLoS ONE*, 9(6), e99720.
- RAVEN, L.A., COCKS, B. G., GODDARD, M.E., PRYCE, J.E. and HAYES, B.J. 2014. Genetic variants in mammary development, prolactin signalling and involution pathways explain considerable variation in bovine milk production and milk composition. *Genetics Selection Evolution*, 46(1), 29.
- RUSSELL, P.J., HERZ, P.E. and MCMILLAN, B. 2014. *Biology : the dynamic science*. Brooks/Cole, Cengage Learning.
- SAATCHI, M., GARRICK, D.J., TAIT, R.G., MAYES, M.S., DREWNSKI, M., SCHOONMAKER, J. and REECY, J.M. 2013. Genome-wide association and prediction of direct genomic breeding values for composition of fatty acids in Angus beef cattle. *BMC Genomics*, 14, 730.
- SADKOWSKI, T., CIECIERSKA, A., MAJEWSKA, A., OPRZADEK, J., DASIEWICZ, K., OLLIK, M. and MOTYL, T. 2014. Transcriptional background of beef marbling - Novel genes implicated in intramuscular fat deposition. *Meat Science*, 97(1), 32–41.
- SAMBROOK, J., RUSSELL, D., JANSSEN, K. and ARGENTINE, J. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. (Cold Spring Harbor Laboratory, NY)
- SCHENKEL, F., MILLER, S., JIANG, Z., MANDELL, I., YE, X., LI, H. and WILTON, J. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 291–299.
- SUN, Y., ZHAO, G., LIU, R., ZHENG, M., HU, Y., WU, D. and WEN, J. 2013. The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome-wide association study. *BMC Genomics*, 14(1), 458.
- TIZIOTO, P. C., COUTINHO, L. L., OLIVEIRA, P. S. N., CESAR, A. S. M., DINIZ, W. J. S., LIMA, A. O. and REGITANO, L.C.A. 2017. Gene expression differences in Longissimus muscle of Nelore steers genetically divergent for residual feed intake. *Scientific Reports*, 7(November), 44345.
- TIZIOTO, P.C., DECKER, J.E., TAYLOR, J.F., SCHNABEL, R.D., MUDADU, M.A., SILVA, F.L. and REGITANO, L.C.A. 2013.

- Genome scan for meat quality traits in Nelore beef cattle. *Physiological Genomics*, 45(21), 1012–1020.
- TODD, J.N., POON, W., LYSSENKO, V., GROOP, L., NICHOLS, B., WILMOT, M. and ROBSON, S. 2015. Variation in Glucose Homeostasis Traits Associated With P2RX7 Polymorphisms in Mice and Humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(5), E688–E696.
- VANRADEN, P.M. 2008 Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *Journal of Dairy Science*, 91, 4414–4423.
- VIDAL, O., NOGUERA, J.L., AMILLS, M., VARONA, L., GIL, M. and JIMÉNEZ, N. 2005. Identification of carcass and meat quality quantitative trait loci in a Landrace pig population selected for growth and leanness. *J Anim Sci*. 83:293–300.
- VISSCHER, P.M., BROWN, M.A., MCCARTHY, M.I. and YANG, J. 2012. Five Years of GWAS Discovery. *The American Journal of Human Genetics*, 90, 7–24.
- VON DER HEYDE, S., FROMM-DORNIEDEN, C., SALINAS-RIESTER, G., BEISSBARTH, T. and BAUMGARTNER, B. G. 2014. Dynamics of mRNA and polysomal abundance in early 3T3-L1 adipogenesis. *BMC Genomics*, 15, 381–395.
- WANG, H., MISZTAL, I., AGUILAR, I., LEGARRA, A., FERNANDO, R. L., VITEZICA, Z. and STEIBEL, J. 2014. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. *Frontiers in Genetics*, 5, 1–10.
- WANG, H., MISZTAL, I., AGUILAR, I., LEGARRA, A. and MUIR, W. M. 2012. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. *Genetics Research*, 94(02), 73–83.
- WHEELOCK, M. J. and KNUDSEN, K. A. 1991. Cadherins and associated proteins. *In Vivo (Athens, Greece)*, 5(5), 505–513.
- WHITE, S. N., CASAS, E., ALLAN, M. F., KEELE, J. W., SNELLING, W. M., WHEELER, T. L. and SMITH, T. P. L. 2007. Evaluation in beef cattle of six deoxyribonucleic acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associated with postweaning growth. *Journal of Animal Science*, 85(1), 1–10.
- XIAO, W.-J., HE, J.-W., ZHANG, H., HU, W.-W., GU, J.-M., YUE, H. and ZHANG, Z.L. 2011. ALOX12 polymorphisms are associated with fat mass but not peak bone mineral density in Chinese nuclear families. *International Journal of Obesity*, 35(3), 378–386.
- ZHANG, S., DANG, Y., ZHANG, Q., QIN, Q., LEI, C., CHEN, H. and LAN, X. 2015. Tetra-primer amplification refractory mutation system PCR (T-ARMS-PCR) rapidly identified a critical missense mutation (P236T) of bovine ACADVL gene affecting growth traits. *Gene*, 559(2), 184–188.
- ZHANG, H., WANG, Z., WANG, S. and LI, H. 2012. Progress of genome wide association study in domestic animals. *J Anim Sci Biotechnol* 3:26.