

MARCADORES DEL GEN LEPTINA EN BOVINOS CRUZADOS CON ANGUS, CEBÚ, ROMOSINUANO Y BLANCO OREJINEGRO

Leptin Gene Markers in Crossbred cattle with Angus, Zebu, Romosinuano and Blanco Orejinegro

Mario Fernando Cerón-Muñoz^{1,2}, Alba Eunery Montoya Atehortua^{1,3}, Esperanza del Rocio Trujillo Bravo¹, Edison Julián Ramírez Toro¹ y Zulma Isabel Monsalve Fonnegra⁴

¹ Grupo de Genética y Mejoramiento Animal, Universidad de Antioquia, ² GRICA. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, ³ Estudiante de Maestría en Biología. Universidad de Antioquia, ⁴ Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. E-mail: mceronm@hotmail.com

RESUMEN

Los cruzamientos incrementan el rendimiento a través del aumento de los niveles de producción de las características de importancia económica como precocidad, fertilidad, calidad de la carne y rendimiento en canal, entre otras. El objetivo de este trabajo fue determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de tres marcadores moleculares del gen leptina (un polimorfismo de un único nucleótido (SNP) y dos microsatélites, BM1500 o ST en la región 3' y WD de la región 5'UTR) y evaluar su posible asociación con características de importancia comercial en una población de bovinos cruzados. Muestras de sangre de 237 bovinos cruzados de criollo Blanco Orejinegro y Romosinuano con las razas Angus y Cebú. Se tomaron medidas del Área de Ojo de Lomo (AOL), Espesor de Grasa Dorsal (EGD), Espesor de Grasa de Cadera (EGC) entre los 18 y 24 meses de edades. Estas mediciones fueron realizadas por ultrasonido. Además fueron analizados peso al nacimiento (PN), peso al destete (PD), peso al año (PA), y peso entre los 18 y 24 meses (P18-24) al igual que la ganancia de peso entre el nacimiento y destete (GPD), destete-primer año (GPDA) y entre 1er año y 2do año (GP2A). Se determinaron las frecuencias génicas y genotípicas para cada marcador y raza. Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg por el método de las cadenas de Markov mediante el programa estadístico GENEPOP. En el SNP, la frecuencia más alta para el alelo T se encontró en los cruzados Romo-Angus- Cebú y Angus-Bon-Cebú y para el alelo C fue en Bon-Cebú y Angus-Bon-Angus-Cebú. Las técnicas de PAGE y PCR-RFLP demostraron que las poblaciones analizadas fueron polimórficas para los tres marcadores estudiados. Se encontra-

ron cuatro alelos para BM1500, catorce para WD y los tres genotipos para el SNP del gen leptina CC, CT, TT. Se encontró asociación del genotipo TT con mayor espesor de grasa de cadera y mayor peso al año de edad ($P \leq 0,05$) y el alelo 183 del microsatélite WD con mayor peso entre los 18 y 24 meses ($P \leq 0,05$). Estos resultados confirman los polimorfismos del gen leptina en animales cruzados, su asociación con características productivas y que éstas tendrán su máxima expresión en determinadas etapas de desarrollo del animal.

Palabras clave: Leptina, calidad de carne, marcadores moleculares, ultrasonido.

ABSTRACT

Crossbreeding increases productivity by increasing production levels of some economical importance such as precocious, fertility, meat quality and yield in carcass, among others. The aims of this study was to determine polymorphisms of three molecular markers of the leptin gene: (A Single Nucleotide Polymorphism (SNP), two microsatellites, BM1500 or ST at the 3'UTR region, and WD at the 5'UTR) and to look for possible association with economical traits in crossbreeding cattle population. Blood samples from 237 crossbreeding animals of creole Blanco orejinegro (BON) with Angus and Zebu breed cattle were taken. Measures were taken of rib eyes area, and backfat thickness, rump fat between 18 to 24 months of age. These measurements were performed using ultrasound. Moreover were analyzed birth weight (BW), weaning weight (PD), weight per year (PA), and weight between 18 and 24 months (P18-24) as well as weight gain between birth and weaning (GPD), weaning-first year (GPDA), and between 1st year and 2nd year (GP2A). Gene and genotypic frequencies were determined. Hardy-Weinberg equilibrium was

determined by the method of Markov chains using the statistical program GENEPOP for the SNP, T allele frequency was larger in Romo-Angus-Zebú and Angus-Bon-Zebú crossbreeding cattle. PAGE and PCR-RFLP techniques demonstrated that analyzed populations were polymorphic for the three markers studied. It was found four alleles for BM1500, fourteen alleles for WD and genotypes for SNP CC, CT and TT. A positive association the TT genotype was found with increased rump fat and more body weight at one year of age ($P \leq 0.05$), and the 183 allele WD higher weight between 18-24 months old ($P \leq 0.05$). These results confirm the leptin gene polymorphisms in crossbreed animals, their association with productive traits and stages of development of the animal that those trait would have their maximum expression in certain.

Key words: Leptin, meat quality, molecular marker, ultrasound.

INTRODUCCIÓN

La leptina es una hormona de 146 aminoácidos, secretada al torrente sanguíneo por los adipocitos blancos. Ha sido implicada en diferentes funciones fisiológicas y asociada con algunas características productivas y reproductivas en animales de domésticos [24]. Al ser la leptina una hormona secretada por el tejido adiposo, la concentración de ésta en sangre es mayor cuanto mayor sea la proporción de grasa corporal. Thomas y col. [33] sugirieron que la leptina es un predictor de peso corporal, circunferencia escrotal y concentración de testosterona en suero, el cual provee las bases para investigar la interacción entre el crecimiento y reproducción en ganado.

En el gen que codifica para leptina se han identificado algunos marcadores moleculares que han sido asociados a diferentes características productivas de los bovinos, entre ellos, un polimorfismo de un único nucleótido (SNP) ubicado en el exón dos y los microsatélites BM1500 o ST en la región 3' y WD de la región 5'UTR [2, 10, 11, 16, 17, 20-22, 30, 35].

Se ha utilizado el ultrasonido para evaluar la asociación entre los marcadores moleculares y el análisis de las características de rendimiento y calidad de carne, el cual es un método no invasivo, con un alto grado de repetibilidad, permite mediciones no destructivas de las características de interés comercial en animales vivos [8, 9, 13, 36, 37], clasificar y seleccionar el ganado por sus méritos a través de programas de selección y mejoramiento, fortaleciendo las explotaciones ganaderas y por lo tanto la industria cárnica, tanto para el consumo interno del país como para productos de exportación.

Los animales cruzados generalmente presentan un mejor desempeño productivo que la media de ambas razas puras, fenómeno que recibe el nombre de heterosis [4, 5]. Cuando los padres son de razas diferentes es más probable que los dos genes para una determinada característica sean distintos, lo que aumenta las oportunidades del individuo para enfrentar las

diferentes circunstancias ambientales que lo cubren en su desenvolvimiento embrionario, fetal y post-natal. Esto explicaría el mejor desempeño en características relacionadas con la adaptación, la fertilidad, sobrevivencia, producción de leche y ganancia de peso que se observa en los animales cruzados. Los cruzamientos incrementan la productividad a través del aumento de los niveles de producción de muchas de las características de importancia económica, creando un nuevo tipo de ganado, al combinar características deseables como precocidad, fertilidad, calidad de la carne y rendimiento en canal, entre otras. Finalmente se busca asociar producción y adaptabilidad [23].

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de tres marcadores del gen Leptina en una población comercial cruzada de Blanco Orejinegro (BON), Romosinuano, Angus y Cebú. Además evaluar la posible asociación de estos marcadores con características de importancia comercial como área de ojo de lomo, espesor de grasa dorsal y de cadera, peso corporal y ganancia de peso entre los 18 y 24 meses de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon 237 animales cruzados distribuidos en los grupos genéticos Angus por Cebú (AC= $\frac{1}{2}$ Angus $\frac{1}{2}$ Cebú), Bon por Cebú (BC= $\frac{1}{2}$ BON $\frac{1}{2}$ Cebú), Romo por Cebú (RC= $\frac{1}{2}$ Romosinuano $\frac{1}{2}$ Cebú), Angus por Bon por Cebú (ABC= $\frac{1}{2}$ Angus $\frac{1}{4}$ BON $\frac{1}{4}$ Cebú), Bon por Angus por Cebú (BAC= $\frac{1}{2}$ BON $\frac{1}{4}$ Angus $\frac{1}{4}$ Cebú), Romo por Angus por Cebú (RAC= $\frac{1}{2}$ Romo $\frac{1}{4}$ Angus $\frac{1}{4}$ Cebú), Angus-BON por Angus-Cebú (ABAC= $\frac{1}{4}$ Angus $\frac{1}{4}$ BON $\frac{1}{4}$ Angus $\frac{1}{4}$ Cebú). Estos animales nacieron en las haciendas la Leyenda y la Pintada en el departamento de Córdoba y después del destete se distribuyen diferencialmente para levante y ceba en cinco fincas de los departamentos de Córdoba y Antioquia (TABLAS I y II) en las cuales son alimentados básicamente con pasto, principalmente *Brachiaria spp.*

El ADN fue extraído a partir de muestras de sangre por el método de *Salting out* o precipitación salina [25] y almacenado en freezer Whirlpool (ED22PQ, Whirlpool, EUA) a -20°C en buffer TE (Tris-EDTA). La reacción de PCR para el SNP se llevó a cabo con los primers: PB-1: 5'ATGCGCTGTGGAC CCCTGTATC-3' y PB-2: 5'TGGTGTCATCCTGG ACCTTCC-3', acceso GenBank: AF120500.1 [2], en las siguientes condiciones: volumen de $20\mu\text{L}$ que contenía aproximadamente 50ng de DNA, Buffer de reacción 1X, MgCl_2 1,5mM, dNTPs 0,02 mM, primer 0,125 μM y 1U de Taq DNA Polimerasa (Fermentas®), con un perfil térmico de 94°C durante 2 min para desnaturalización, seguido de 35 ciclos así: 94°C durante 45 seg, 61°C 45 seg para alineamiento 72°C por 55 seg y extensión final a 72°C por 3 min por un ciclo. Este amplificado fue sometido a digestión por la enzima *Kpn2I* (fermentas®), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Visualizados en geles de agarosa de bajo punto de fusión al 5%.

TABLA I
NÚMERO DE ANIMALES CRUZADOS MUESTREADOS PARA LOS MARCADORES DEL GEN EN HACIENDAS COLOMBIANAS/ NUMBER OF ANIMALS CROSSED SAMPLED FOR THE LEPTIN GENE MARKERS OF LEPTIN IN COLOMBIAN PROPERTIES

Procedencia	Finca	Machos	Hembras	No. Individuos
Montería (Córdoba)	Providencia	–	25	25
Caucasia (Antioquia)	La Pintada	–	60	60
Caucasia (Antioquia)	Manaos	46	–	46
Yarumal (Antioquia)	La María	19	–	19
Jericó (Antioquia)	La Perla	87	–	87
Total		152	85	237

TABLA II
NÚMERO DE INDIVIDUOS POR GRUPOS GENÉTICOS MUESTREADOS EN ESTE ESTUDIO PARA LOS MARCADORES DEL GEN LEPTINA, EN HACIENDAS COLOMBIANAS/ NUMBER OF ANIMALS CROSSED BY GENETIC GROUP SAMPLED FOR THE LEPTIN GENE MARKERS OF LEPTIN IN COLOMBIAN PROPERTIES

Procedencia	No. Individuos
Angus X Cebú (AC)	51
Bon X Cebú (BC)	64
Romo X Cebú (RC)	24
Angus X Bon X Cebú (ABC)	18
Bon X Angus X Cebú (BAC)	56
Romo X Angus X Cebú (RAC)	16
Angus-BON X Angus-Cebú (ABAC)	8
Total	237

Para el microsatélite BM1500 o ST se utilizaron los primers ST-1: 5'GATGCAGCAGACCAAGTGG-3' y ST-2: 5'CCCA-ATGCTAGAACCAGG-3', (acceso GenBank: G18586) [29] y para la amplificación del microsatélite WD, fueron utilizados los primers: WD-1 5'TTCTAATCCTGCAATATCTTGTC-3' y WD-2 5'AAACAGGCCGTAGCAGTACAG-3', (acceso GenBank: U50365) [34], en las siguientes condiciones: 20 µL de volumen de reacción con 0,25 µM de primers, 0,5U de Taq DNA pol (Fermentas®), para WD las condiciones fueron 15 µL de reacción con 2,0mM de MgCl₂, 0,26µM de primers y 0,5U de Taq DNA Polimerasa (Invitrogen®), los demás componentes de la reacción fueron iguales que para el SNP, el perfil térmico para ambos microsatélites fue 95°C por 2 min, 94°C por 30 seg, 61°C por 20 seg, 72°C por 1 min, por 30 ciclos y con una extensión final de 72°C por 10 min. Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un Termociclador Biometra®, (Tpersonal, Whatman, Alemania).

Todos los productos de amplificación fueron verificados en geles de agarosa al 2%, posteriormente los microsatélites BM1500 y WD se resolvieron por electroforesis en geles de poliacrilamida al 6% seguido de tinción con nitrato de plata [3]. Para el SNP se realizó una digestión simple en un total de 20 uL. La reacción consistió en 15uL del amplificado y 2U de la enzima de restricción *Kpn2I* (fermentas®). La reacción fue in-

cupada en baño maría (Memmert, DIN40050 Ip20, Schutzart, Alemania) a 55°C durante 4 horas. Los fragmentos fueron visualizados por electroforesis en geles de agarosa de bajo punto de fusión al 5%. La verificación de los resultados para los tres marcadores fueron realizadas por secuenciación en los laboratorios de Macrogen, EUA Corp.

Las mediciones de área de ojo de lomo (AOL), espesor de grasa dorsal (EGD) y el espesor de grasa de cadera (EGC) se realizaron entre los 18 y 24 meses de edad. Estas mediciones fueron realizadas por ultrasonido utilizando un equipo Aloka SSD-500, un transductor lineal de 3,5 MHz de 12.0 cm (Aloka EUA, Inc., Wallingford, CT). Las imágenes fueron capturadas usando la tarjeta digitalizadora PXC-200AL (CyberOptics Semiconductor Corporation Beaverton, EUA) e interpretadas con el analizador de imágenes IA90 del componente CPEC (Cattle Performance Enhancement Company, Oakley, Kansas EUA). También fueron analizadas las variables Peso al nacimiento (PN), peso al destete (PD), peso al año (PA) y peso entre los 18 y 24 meses (P18-24) al igual que la ganancia de peso: entre nacimiento y destete (GPD), destete-primer año (GPDA) y entre 1^{er} año y 2^{do} año (GP2A).

Para el análisis estadístico se determinaron las frecuencias génicas y genotípicas para cada marcador y raza. Se determinó si este grupo cumplía las condiciones de equilibrio de Hardy-We-

TABLA III

FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS PARA UN POLIMORFISMO DE UN ÚNICO NUCLEÓTIDO (SNP) DEL GEN LEPTINA, EQUILIBRIO DE HW Y FIS DE LAS POBLACIONES BOVINAS CRUZADAS COLOMBIANAS DE ESTE ESTUDIO/ ALLELIC AND GENOTYPIC FREQUENCIES FOR A SINGLE NUCLEOTIDE POLIMORPHISM (SNP) OF THE LEPTIN GENE, HW EQUILIBRIO AND FIS OF THE POPULATION BOVINE CROSSED COLOMBIAN OF THIS STUDY

		Criollos con Cebú y Ángus						Total	
		½Angus ½Cebú	½Bon ½Cebú	½Romo ½Cebú	½Angus ¼Bon ¼Cebú	½Bon ¼Angus ¼Cebú	½Romo ¼Angus ¼Cebú	¼Angus ¼Bon ¼Angus ¼Cebú	
No. de animales		50	64	24	18	56	16	8	236
No. de alelos		100	128	48	36	112	32	16	472
Alelos	C	0,52	0,86	0,5	0,47	0,71	0,44	0,81	0,62
	T	0,48	0,14	0,5	0,53	0,29	0,56	0,19	0,38
Genotipos	CC	0,28	0,73	0,17	0,22	0,52	0,19	0,62	0,39
	CT	0,48	0,25	0,67	0,5	0,38	0,5	0,38	0,45
	TT	0,24	0,02	0,17	0,28	0,11	0,31		0,16
Equilibrio HW		SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
Fis		+0,05	-0,03	-0,31	+0,03	+0,11	+0,02	-0,177	

HW Población en equilibrio o desequilibrio según la prueba exacta de Hardy Weinberg por el método de cadenas de Harkov.

Fis: valor negativo o positivo, hay exceso o déficit de heterocigotos respectivamente ($P \leq 0,05$).

TABLA IV

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS PESO ENTRE 18 Y 24 MESES (P18-24), ÁREA DE OJO DE LOMO (AOL) Y ESPESOR DE GRASA DORSAL (EGD) Y DE CADERA (EGC), TENIENDO EN CUENTA EL GENOTIPO DE SNP DEL GEN DE LEPTINA EN ANIMALES CRUZADOS COLOMBIANOS/ ANALYSIS OF VARIANCE FOR WEIGHT TO THE 18 TO 24 MONTHS (P18-24), RIB EYE AREA (AOL) AND BACKFAT THICKNESS (EGD) AND RUMP FAT (EGC), TRAITS, CONSIDERING A SNP LEPTIN GENE IN CROSSED ANIMALS COLOMBIAN

F.V.	P18-24		AOL		EGD		EGC	
	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.
Edad	1	12396,44**	1	165,64**	1	0,042**	1	0,022*
GC	22	30013,74**	21	245,93**	22	0,014**	22	0,049**
SNP	2	182,91 ^{n.s}	2	26,43 ^{n.s}	2	0,006 ^{n.s}	2	0,02*
Error	202	615,73	159	17,48	197	0,005	199	0,005
R ²	0,86		0,7		0,37		0,59	
C.V.	9		11,8		13,9		12,5	
General		275,6kg		Promedio 35,37cm ²		0.51cm		0,57cm
CC								0,57cm B
CT								0,56cm B
TT								0,60cm A

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; C.M.= cuadrado medio; GC=grupo contemporáneo; R²= coeficiente de determinación; C.V.= coeficiente de variación; CC, CT y TT son los genotipos posibles para SNP; n.s= no significativo; **= $P \leq 0,01$ y * = $P \leq 0,05$. Genotipos con letra diferente indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los genotipos con la prueba de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$).

TABLA V

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS PESO AL NACIMIENTO (PN), PESO AL DESTETE (PD), PESO AL AÑO (PA) Y GANANCIAS DE PESO ENTRE EL NACIMIENTO Y DESTETE (GPND), ENTRE EL DESTETE Y AÑO (GPDA) Y ENTRE EL AÑO Y LOS DOS AÑOS (GPD2A), TENIENDO EN CUENTA EL GENOTIPO DE SNP DEL GEN DE LEPTINA EN ANIMALES CRUZADOS COLOMBIANOS/ ANALYSIS OF VARIANCE FOR CHARACTERISTIC THE WEIGHT TO THE BIRTH (PN), WEIGHT TO THE WEANING (PD), WEIGHT TO THE YEAR (PA) AND GAINS OF WEIGHT BETWEEN THE BIRTH AND WEANS (GPND), BETWEEN THE WEANING AND YEAR (GPDA) AND BETWEEN THE YEAR AND BOTH YEARS (GPD2A), CONSIDERING THE GENOTYPE OF SNP OF THE GENE OF LEPTIN IN CROSSED ANIMALS COLOMBIAN

F.V	PN		PD		PA		GPND		GPDA		GPD2A	
	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.
Edad	9		1	1943,2*	1	2,9 ^{n.s}	1	0,014 ^{n.s}	1	0,02*	1	0,0067 ^{n.s}
GC	2	4,67 ^{n.s}	9	913,85*	5	745,8*	14	0,12*	11	0,01*	8	0,017**
SNP		2,04 ^{n.s}	2	32,45 ^{n.s}	2	857,06*	2	0,00002 ^{n.s}	2	0,001 ^{n.s}	2	0,0012 ^{n.s}
Error	66	2,97	65	324,94	30	283,87	67	0,0045	64	0,004	52	
R ²		0,2		0,42		0,39		0,36		0,56		0,5
C.V.		5,96		10		8,9		11,98		12,57		9,7
General						Promedio						
CC						189,26kg						
CT						181,77kg B						
TT						184,54kg B						
						209,54kg A						

F.V= fuente de variación; gl= grados de libertad; C.M.= cuadrado medio; GC=grupo contemporáneo; R²= coeficiente de determinación; C.V.= coeficiente de variación; CC, CT y TT son los genotipos posibles para SNP; n.s= no significativo; **= P ≤ 0,01 y *= P ≤ 0,05. Genotipos con letra diferente indica que existen diferencias entre medias con la prueba de Tukey y Kramer (P ≤ 0,05).

TABLA VI

FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS PARA EL MICROSATÉLITE ST DEL GEN LEPTINA, EQUILIBRIO DE HW Y FIS DE LAS POBLACIONES BOVINAS CRUZADAS COLOMBIANAS DE ESTE ESTUDIO/ ALLELIC AND GENOTYPIC FREQUENCIES FOR A ST MICROSATELLITE OF THE LEPTIN GENE, HW EQUILIBRIO AND FIS OF THE POPULATION BOVINE CROSSED COLOMBIAN OF THIS STUDY

	Cruzados								Total
	½Angus ½Cebú	½Bon ½Cebú	½Romo ½Cebú	½Angus ¼Bon ¼Cebú	½Bon ¼Angus ¼Cebú	½Romo ¼Angus ¼Cebú	¼Angus ¼Bon ¼Angus ¼Cebú		
No. de animales	50	64	24	18	54	15	8	233	
No. de alelos	100	128	48	36	108	30	16	466	
Alelos	136	0,46	0,20	0,54	0,39	0,32	0,57	0,06	0,35
	138								
	144	0,48	0,60	0,35	0,47	0,47	0,37	0,94	0,51
	146	0,05	0,17	0,06	0,11	0,20	0,07		0,12
	148	0,01	0,03	0,04	0,03				0,02
Genotipos	136-136	0,080		0,167	0,056	0,074	0,333		0,077
	136-144	0,660	0,313	0,583	0,444	0,315	0,333	0,125	0,421
	136-146	0,080	0,047	0,083	0,167	0,185	0,133		0,103
	136-148	0,020	0,031	0,083	0,056				0,026
	138-146								
	144-144	0,140	0,328	0,042	0,222	0,204	0,200	0,875	0,232
	144-146	0,020	0,234	0,042	0,056	0,222			0,129
	144-148								
	146-146		0,016						0,004
	146-148		0,031						0,009
	148-148								
Equilibrio HW		SI	SI	SI	SI	SI	SI		
Fis		-0,40	-0,15	-0,36	-0,15	-0,14	0,17		

HW Población en equilibrio o desequilibrio según la prueba exacta de Hardy Weinberg por el método de cadenas de Markov. WC Fis: valor negativo o positivo, hay exceso o déficit de heterocigotos respectivamente (P ≤ 0,05).

TABLA VII

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS PESO ENTRE 18 Y 24 MESES (P18-24), ÁREA DE OJO DE LOMO (AOL), ESPESOR DE GRASA DORSAL (EGD) Y DE CADERA (EGC), TENIENDO EN CUENTA LA PRESENCIA O AUSENCIA DE LOS ALELOS 136, 144 Y 146 DEL MICROSATÉLITE ST DEL GEN DE LEPTINA EN ANIMALES CRUZADOS COLOMBIANOS/ ANALYSIS OF VARIANCE FOR CHARACTERISTIC THE WEIGHT BETWEEN 18 AND 24 MONTHS (P18-24), AREA OF BACK EYE (AOL), BACKFAT THICKNESS (EGD) AND RUMP FAT (EGC), CONSIDERING THE PRESENCE OR ABSENCE OF ALLELES 136, 144 AND 146 OF MICROSATELLITE ST OF THE GENE OF LEPTIN IN CROSSED ANIMALS COLOMBIAN

FV	P18-24		AOL		EGD		EGC	
	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.
Edad	1	11818,96**	1	171,92**	1	0,041*	1	0,019*
GC	22	28477,43**	21	222,91**	22	0,013**	22	0,05**
st136	1	0,73 ^{n.s}	1	13,59 ^{n.s}	1	0,002 ^{n.s}	1	0,002 ^{n.s}
st144	1	0,0001 ^{n.s}	1	11,22 ^{n.s}	1	0,0006 ^{n.s}	1	0,002 ^{n.s}
st146	1	172,82 ^{n.s}	1	10,61 ^{n.s}	1	0,0000 ^{n.s}	1	0,004 ^{n.s}
Error	199	616,93	157	17,94	194	0,005	196	0,005
R ²		0,86		0,69		0,36		0,57
C.V.		8,99		11,96		13,9		12,81
Promedio		276,21kg		35,42cm ²		0,51cm		0,57cm

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; C.M.= cuadrado medio; GC=grupo contemporáneo; R²= coeficiente de determinación; C.V.= coeficiente de variación; n.s.= no significativo **= P ≤ 0,01 y *= P ≤ 0,05.

TABLA VIII

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS PESO AL NACIMIENTO (PN), PESO AL DESTETE (PD), PESO AL AÑO (PA) Y GANANCIAS DE PESO ENTRE EL NACIMIENTO Y DESTETE (GPND), ENTRE EL DESTETE Y AÑO (GPDA) Y ENTRE EL AÑO Y LOS DOS AÑOS (GPD2A), TENIENDO EN CUENTA LA PRESENCIA O AUSENCIA DE LOS ALELOS 136, 144 Y 146 DEL MICROSATÉLITE ST DEL GEN DE LEPTINA EN ANIMALES CRUZADOS COLOMBIANOS/ ANALYSIS OF VARIANCE FOR CHARACTERISTIC THE WEIGHT BETWEEN 18 AND 24 MONTHS (P18-24), AREA OF BACK EYE (AOL), BACKFAT THICKNESS (EGD) AND RUMP FAT (EGC), CONSIDERING THE PRESENCE OR ABSENCE OF ALLELES 136, 144 AND 146 OF MICROSATELLITE ST OF THE GENE OF LEPTIN IN CROSSED ANIMALS COLOMBIAN

FV	PN		PD		PA		GPND		GPDA		GPD2A	
	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.
Edad			1	2105,46**	1	8 ^{n.s}	1	0,018*	1	0,122 ^{n.s}	1	0,003 ^{n.s}
GC	9	4,04 ^{n.s}	9	1019,01**	5	771,93**	9	0,012**	8	0,016**	6	0,022**
st136	1	0,67 ^{n.s}	1	140,78 ^{n.s}	1	732,7 ^{n.s}	1	0,003 ^{n.s}	1	0,003 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}
st144	1	0,47 ^{n.s}	1	191,63 ^{n.s}	1	47,29 ^{n.s}	1	0,004 ^{n.s}	1	0,003 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}
st146	1	1,15 ^{n.s}	1	16,3 ^{n.s}			1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,002 ^{n.s}
Error	65	197,72	64	314,93	30	302,44	64	0,004	61	0,004	49	0,003
R ²		0,19		0,45		0,35		0,39		0,59		0,51
C.V.		6,06		9,84		9,19		11,77		12,21		9,76
Promedio		28,79		180,32		189,26		0,547		0,507		0,5462

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; C.M.= cuadrado medio; GC=grupo contemporáneo; R²= coeficiente de determinación; C.V.= coeficiente de variación; n.s.= no significativo; **=P≤0,01 y *= P≤0,05.

TABLA IX
FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS PARA EL MICROSATÉLITE WD DEL GEN LEPTINA, EQUILIBRIO DE HW Y FIS DE LAS POBLACIONES BOVINAS CRUZADAS COLOMBIANAS DE ESTE ESTUDIO/ ALLELIC AND GENOTYPIC FREQUENCIES FOR A WD MICROSATELLITE OF THE LEPTIN GENE, HW EQUILIBRIO AND FIS OF THE POPULATION BOVINE CROSSED COLOMBIAN OF THIS STUDY

		Cruzados						Total	
		½Angus ½Cebú	½Bon ½Cebú	½Romo ½Cebú	½Angus ¼Bon ¼Cebú	½Bon ¼Angus ¼Cebú	½Romo ¼Angus ¼Cebú	¼Angus ¼Bon ¼Angus ¼Cebú	
No. de animales		48	64	23	18	53	16	8	230
No. de alelos		96	128	46	36	106	32	16	460
Alelos	171	0,385	0,281	0,370	0,083	0,151	0,219	0,125	0,257
	173	0,021	0,023	0,043	0,028	0,009		0,063	0,022
	175	0,010	0,016	0,022		0,019		0,063	0,015
	177	0,156	0,469	0,196	0,361	0,566	0,188	0,375	0,367
	179	0,063	0,039	0,065	0,028		0,094		0,039
	181	0,063	0,047	0,065	0,028	0,019	0,188		0,052
	183	0,146	0,078	0,130	0,222	0,075	0,156	0,375	0,124
	185	0,063	0,023	0,065		0,066	0,031		0,043
	187	0,010	0,016	0,022	0,028	0,009			0,013
	189					0,009			0,002
	191	0,063	0,008	0,022	0,139	0,057	0,094		0,048
	193	0,010			0,028				0,004
	201	0,010			0,056	0,019			0,011
	203						0,031		0,002
Genotipos	171-171	0,250	0,063	0,348		0,038	0,188		0,126
	177-171	0,104	0,406	0,043	0,056	0,208	0,063	0,125	0,200
	177-177	0,063	0,109	0,130	0,167	0,302	0,125	0,125	0,152
	181-177	0,021	0,078	0,043		0,019			0,035
	181-181	0,021		0,043			0,188		0,022
	183-171	0,083						0,125	0,022
	183-173							0,125	0,004
	183-175			0,043		0,019		0,125	0,013
	183-177		0,109	0,043	0,056	0,075	0,063	0,375	0,074
	183-183	0,083	0,016	0,043	0,111	0,019	0,125		0,048
	185-175		0,016			0,094			0,026
	185-185	0,021	0,016	0,043		0,019			0,017
	191-177				0,111	0,094			0,030
Equilibrio HW		NO	SI	NO	SI	SI	NO	SI	
Fis		0,35	-0,15	0,63	0,11	0,04	0,72	-0,20	

HW Población en equilibrio o desequilibrio según la prueba exacta de Hardy Weinberg por el método de cadenas de Markov.
 Fis: valor negativo o positivo, hay exceso o déficit de heterocigotos respectivamente (P ≤ 0,05)

TABLA X

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS PESO ENTRE 18 Y 24 MESES (P18-24), ÁREA DE OJO DE LOMO (AOL), ESPESOR DE GRASA DORSAL (EGD) Y DE CADERA (EGC), TENIENDO EN CUENTA LA PRESENCIA O AUSENCIA DE LOS ALELOS 171, 177, 181 Y 183 DEL MICROSATÉLITE WD DEL GEN DE LEPTINA EN ANIMALES CRUZADOS COLOMBIANOS/ ANALYSIS OF VARIANCE FOR CHARACTERISTIC THE WEIGHT BETWEEN 18 AND 24 MONTHS (P18-24), AREA OF BACK EYE (AOL), BACKFAT THICKNESS (EGD) AND RUMP FAT (EGC), CONSIDERING THE PRESENCE OR ABSENCE OF ALLELES 171, 177, 181 AND 183 OF MICROSATELLITE WD OF THE GENE OF LEPTIN IN CROSSED ANIMALS COLOMBIAN

FV	P18-24		AOL		EGD		EGC	
	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.
Edad	1	12549,4**	1	196,53**	1	0,048**	1	0,022**
GC	22	27.429.2**	21	212,76**	22	0,012**	22	0,044**
171	1	922,19 ^{n.s}	1	2,86 ^{n.s}	1	0,0015 ^{n.s}	1	0,005 ^{n.s}
177	1	196,74 ^{n.s}	1	22,6 ^{n.s}	1	0,004 ^{n.s}	1	0,0036 ^{n.s}
181	1	19,8 ^{n.s}	1	7,39 ^{n.s}	1	0,005 ^{n.s}	1	0,003 ^{n.s}
183	1	1857,77*	1	0,14 ^{n.s}	1	0001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}
Error	194	604,7	151	17,15	189	0,005	191	0,005 ^{n.s}
R ²		0,86		0,7		0,36		0,57
C.V.		8,95		11,72		13,86		12,88
Promedio		274,8		35,3		0,51		0,57
Coeficientes de regresión parcial								
183		7,26						

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; C.M.= cuadrado medio; GC=grupo contemporáneo; R²= coeficiente de determinación; C.V.= coeficiente de variación; n.s= no significativo; **= P ≤ 0,01 y *= P ≤ 0,05.

TABLA XI

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS CARACTERÍSTICAS PESO AL NACIMIENTO (PN), PESO AL DESTETE (PD), PESO AL AÑO (PA) Y GANANCIAS DE PESO ENTRE EL NACIMIENTO Y DESTETE (GPND), ENTRE EL DESTETE Y AÑO (GPDA) Y ENTRE EL AÑO Y LOS DOS AÑOS (GPD2A), TENIENDO EN CUENTA LA PRESENCIA O AUSENCIA DE LOS ALELOS 171, 177, 181 Y 183 DEL MICROSATÉLITE WD DEL GEN DE LEPTINA EN ANIMALES CRUZADOS COLOMBIANOS/ ANALYSIS OF VARIANCE FOR CHARACTERISTIC THE WEIGHT TO THE BIRTH (PN), WEIGHT TO THE WEANING (PD), WEIGHT TO THE YEAR (PA) AND GAINS OF WEIGHT BETWEEN THE BIRTH AND WEANS (GPND), BETWEEN THE WEANING AND YEAR (GPDA) AND BETWEEN THE YEAR AND BOTH YEARS (GPD2A), CONSIDERING THE PRESENCE OR ABSENCE OF ALLELES 171, 177, 181 AND 183 OF MICROSATELLITE WD OF THE GENE OF LEPTIN IN CROSSED ANIMALS COLOMBIAN

FV	PN		PD		PA		GPD		GPDA		GPD2A	
	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.	GL	C.M.
Edad			1	1584,98**	1	64,17 ^{n.s}	1	0,013*	1	0,019*	1	0,009 ^{n.s}
GC	9	4,9 ^{n.s}	9	749,66**	5	813,3**	9	0,008*	8	0,013**	6	0,193**
171	1	0,83 ^{n.s}	1	90,95 ^{n.s}	1	30,7 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}
177	1	0,73 ^{n.s}	1	80,93 ^{n.s}	1	912,3*	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}
181	1	2,03 ^{n.s}	1	31,67 ^{n.s}	1	32,22 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,008 ^{n.s}
183	1	0,85 ^{n.s}	1	4,37 ^{n.s}	1	141,36 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}	1	0,001 ^{n.s}
Error	61	3,08	60	332,6	27	304,33	60	0,004	57	0,004	45	0,002
R ²		0,21		0,42		0,35		0,35		0,55		0,11
C.V.		6,11		10,16		9,3		12,15		12,54		12,43
Promedio		28,73		179,57		188,32		0,54		0,5		0,54
Coeficiente de regresión parcial												
177		0,19		2		-9,52		0,006		-0,003		-0,009

F.V.= fuente de variación; gl= grados de libertad; C.M.= cuadrado medio; GC=grupo contemporáneo; R²= coeficiente de determinación; C.V.= coeficiente de variación; n.s= no significativo; **= P ≤ 0,01 y *= P ≤ 0,05.

inberg ($P \leq 0,05$), por el método de las cadenas de Markov, así como el posible déficit o exceso de heterocigotos (Fis) mediante el programa estadístico GENEPOP versión 3,3 [27].

Las asociaciones entre los marcadores y las características incluidas en este estudio fueron realizadas según el análisis de varianza para cada marcador, utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS [29], para cada marcador incluyendo los efectos fijos de grupo contemporáneo (conformado por animales medidos en el mismo rebaño, del mismo grupo genético y sexo), las variantes alélicas y la covariable edad del animal en el momento de la medición.

En los análisis para el SNP del gen leptina se consideraron los genotipos CC, TT y CT. Para los análisis de los microsatélites se tuvieron en cuenta los alelos de mayor frecuencia. Para el marcador ST se consideraron tres regresiones parciales de ausencia o presencia en el genotipo del animal de los alelos 136; 144 y 148, tomando valores de 0; 1 y 2 para cada regresor. Para el marcador WD, se consideraron las regresiones parciales dependiendo del número de alelos presentes en el genotipo de los alelos 171; 177; 181 y 183.

Los grupos contemporáneos fueron formados por grupo genético (AC, BC, RC, ABC, BAC, RAC, ABAC), finca (La María, La Perla, La Pintada, Providencia y Manaos) y sexo (M y H). El principio de formación de grupos es remover el efecto diferencial de manejo [6, 18, 34]. En este caso el interés es absorber los efectos de grupo genético, finca y sexo para analizar el efecto marcador.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para todos los marcadores fueron muy variables en los diferentes grupos genéticos. Para el SNP la mayor frecuencia del alelo T fue 0,56 y 0,53 para RAC y ABC, respectivamente. El alelo C fue más frecuente en BC (0,86), ABAC (0,81), BAC (0,71) y AC (0,52). En RC ambos alelos presentaron la misma frecuencia (0,5). Los grupos genéticos con Romosinuano y Angus presentaron frecuencias similares de los alelos C y T (frecuencias entre 0,4 y 0,6), al igual que los F1 de Angus-Cebú. En los grupos genéticos con Bon y Angus la frecuencia del alelo T fue menor que la del alelo C, especialmente los que presentaron mayor porcentaje de BON (TABLA III). El genotipo TT con mayor frecuencia se presentó únicamente en ABC con 0,28. El heterocigoto CT se encontró en mayor frecuencia para RC (0,67), RAC (0,5) y AC (0,48). Para el genotipo CC la mayor frecuencia fue 0,73, 0,62 y 0,52 para BC, ABAC y BAC, respectivamente (TABLA III). Todas las poblaciones estuvieron en equilibrio H-W. Buchanan y col. [2] y Kononoff y col. [20], entre otros, encontraron el alelo T con mayor frecuencia en animales Angus y Herford y los relacionaron con canales más grasos que las canales de animales con genotipo CC.

Los resultados de asociación mostraron diferencias estadísticamente significativas para el genotipo TT del SNP, con características como mayor espesor de grasa de cadera (EGC) y mayor peso al año PA (TABLAS IV y V). Las demás características no presentaron asociación con genotipos del SNP. El EGD al no ser significativo, corrobora que en animales en pastoreo, el EGC es una medida mejor valorada que el EGD, ya que el EGC puede ser mayor a la grasa del lomo de los animales debido a procesos fisiológicos [12, 14, 19]. Franco y col. [12] reportaron para bovinos cruzados Herford, Angus y Salers, mayores valores en EGC que en EGD con diferencias significativas entre animales cruzados para EGC. Además EGC es la medida usada para determinar más exactamente el total de grasa corporal, es altamente repetible y es la menos difícil de coleccionar e interpretar [19].

Para el microsatélite ST (BM1500) se identificaron entre 2 y 4 alelos (TABLA VI), siendo la menos polimórfica el cruce ABAC con sólo dos alelos (136 y 144), en los demás se encontraron 4 alelos. Las mayores frecuencias se encontraron en los alelos 136 y 144 para todos los grupos genéticos. Fitzsimmons y col. [10] encontraron los alelos 138 y 146 asociados con altos y bajos niveles de grasa en la canal respectivamente. En este estudio no se encontró el alelo 138 y la frecuencia del 146 fue baja, por tanto no se pudo corroborar la asociación de este alelo con las características evaluadas (TABLAS VII y VIII). Guerra y col. [15] también encontraron bajas frecuencias del alelo 146 en las razas criollas BON y Hartón del Valle, y en la raza Cebú. Ninguno de los alelos del microsatélite ST presentó asociación con las características evaluadas en estos animales.

Se encontraron 6 genotipos para AC, RC y ABC, 7 para BC, 5 para BAC, 4 para RAC y 2 para ABAC. Los genotipos con mayor frecuencia fueron 136/144 para AC, RC, ABC, BAC con frecuencia de 0,66; 0,58; 0,44; 0,32, respectivamente; 144/144 para ABAC y BC con 0,875 y 0,328, respectivamente y 136/136 y 136/144 para RAC con igual frecuencia de 0,333. Todas las poblaciones de cruzados estuvieron en equilibrio H-W (TABLA VI).

Para el microsatélite WD, se encontraron 14 alelos (TABLA IX) variando para cada grupo genético, 12 para AC, 11 para BAC, 10 para BC, RC y ABC, 8 para RAC y 5 para ABAC. Los alelos más frecuentes fueron el 171; 177 y 183 los demás alelos se encontraron con muy baja frecuencia (menos del 15%), al ser estos alelos los más comunes en la población fueron tenidos en cuenta para los análisis de asociación. El 171 para AC, RC y RAC con 0,385; 0,370 y 0,219, respectivamente, el 177 para BAC, BC y ABC con 0,566; 0,469 y 0,361, respectivamente, 177 y 183 para ABAC con una frecuencia de 0,375 para ambos alelos. Se identificaron 12 genotipos para AC, 10 para BC, 11 para RC, 7 para ABC y RAC, 11 para BAC y 6 para ABAC. Los genotipos con alta frecuencia fueron los homocigóticos 171/171 y 177/177 y los heterocigóticos 171/177 y 177/183.

En el análisis de los valores de Fis, medido como la desviación de heterocigotos en comparación con la esperada Hardy Weinberg, para este microsatélite se encontró que varió entre -0,2 a + 0,72 presentando diferencias estadísticamente significativas para los grupos genéticos AC, RC y RAC (Fis 0,35; 0,63 y 0,72, respectivamente) indicando deficiencia de heterocigóticos en estos grupos genéticos, concordante con el desequilibrio de H-W obtenido para estos cruces y aunque se presentó un alto polimorfismo para este microsatélite, la frecuencia de los heterocigóticos fue baja. Este déficit de heterocigotos podría darse por alelos idénticos por descendencia o por estado, ya que siendo animales cruzados no podría hablarse de endogamia.

El alelo 209 del microsatélite WD asociado con mayor AOL por Tessanne y col. [32] no se encontró en este estudio, pero se encontró asociación del alelo 183 con P18-24 ($P < 0,05$), indicando que animales con presencia de los dos alelos 183 pesaron entre los 18 y 24 meses 14,5 kg más que los que no presentaron este alelo. Para el alelo 177 de este mismo microsatélite se encontró una asociación negativa con PA ($P < 0,05$), indicando que animales con los dos alelos 177 pesaron al año 39,04 kg a menos que los individuos sin este alelo (TABLAS X y XI). Las variables AOL, EGD, PN, PD y ganancias de peso no presentaron asociación con ninguno de los marcadores de este estudio.

Los datos obtenidos muestran resultados muy variables, tanto por marcador como por grupos genéticos. Aunque no se encontró asociación de estos marcadores con todas las características evaluadas se observa una influencia del genotipo TT del SNP y del alelo 183 del microsatélite WD con características productivas y de desarrollo lo que permitirá realizar cruces de acuerdo con los intereses productivos y de mercado de cada productor.

Por otro lado es importante tener en cuenta que la expresión de los genes en las características productivas va a estar influenciados por las condiciones ambientales a las que están sometidos los animales. Diferentes estudios [1, 7, 26, 28, 31] han demostrado que el tipo de alimentación también está influenciando el estado y grado de engrasamiento y la ganancia de peso. Allen y col. [1] sostienen que el espesor de grasa y la calidad de las canales se modifican dependiendo del tipo de pastoreo al que son sometidos los animales. Además, las características productivas varían con la edad, condición física y morfológica, situación que podría, explicar que no se haya encontrado asociación con las demás características evaluadas.

AGRADECIMIENTO

Es trabajo fue posible gracias a la Financiación de Colciencias, a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de Antioquia y la empresa Custodiar S.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALLEN, V.G.; FONTENOT, J.P.; NOTTER, D.R.; HAMMES, R.C. JR. Forage systems for beef production from conception to slaughter: I. Cow-calf production. *J. of Anim Sc.* 70: (2) 576-587. 1992.
- [2] BUCHANAN, F.C.; FITZSIMMONS, C.J.; VAN KESSEL A.G; THUE, T.D.; WINDKELMAN-SIM, C.D; SCHMUTZ, S.M. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet. Sel. Evol.* 34:105-116. 2002.
- [3] BUDOWLE, B.; CHAKRABORTY, R.; GIUSTI, A.M.; EISENBERG, A.J.; ALLEN, R.C. Analysis of the VNTR Locus DIS80 by the PCR Followed by High-Resolution PAGE. *Am. J. Hum. Genet.* 48: 137-144. 1991.
- [4] CAMPOS, J.C. Heterose e cruzamentos. **Melhoramento Genético Aplicado à Productio Animal.** Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte. 222-283 pp. 2004.
- [5] CARDELLINO, R.; ROVIRA, J. Mejoramiento Genético animal. Edit. Hemisferio Sur. Uruguay. 253 pp. 1987.
- [6] COBUCCI, J. A.; ABREU, U.; TORRES, R. **Formação de Grupos Contemporâneos em Bovinos de Corte.** 2006. Documentos ISSN 1517-1973; 87. 1ª impressão. Corumbá: Embrapa Pantanal. 27pp. En línea: <http://www.ufrgs.br/zootecnia/nespro/destaques/DOC87.pdf>. 2 de febrero de 2008.
- [7] DUCKETT, S.K.; WAGNER, D.G.; YATES, L.D.; DOLEZAL, H.G.; MAY, S.G. Effects of Time on Feed on Beef Nutrient Composition. *J. Anim. Sci.* 71:2079-2088. 1993.
- [8] FAULKNER, D.B.; PARRETT, D.F.; MCKEITH, F.K.; BERGER, L.L. Prediction of fat cover and carcass composition from live and carcass measurements. *J. Anim. Sci.* 68:604-610. 1990.
- [9] FIGUEIREDO, L.G.G. Estimativas de parâmetros genéticos de características de carcaças feitas por ultrasonografia em bovinos da raça Nelore. Pirassununga. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de Sao Paulo. Tese Mestrado. 52 pp. 2001.
- [10] FITZSIMMONS, C.J.; SCHMUTZ, S.M.; BERGEN, R.D.; MCKINNON, J.J. A potential association between the BM1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81: 1-8. 1998.
- [11] FITZSIMMONS, C.J.; SCHMUTZ, S.C. A SNP in the leptin gene leads to a change in the amino acid sequence of the mature protein in cattle. 1999. Plant & Animal Genome VII Conference, On line: <http://www.intl-pag.org/pag/7/abstracts/pag7152.html>. 11 de Septiembre de 2004.
- [12] FRANCO, J.; FEED, O.; GIMENO, D.; AGUILAR, I.; AVENDAÑO, S. Cómo cambia el rendimiento carnicero

- con los cruzamientos. Calidad de la Canal. **Seminario de Actualización Técnica: Cruzamientos en Bovinos de Carne**. Resultados FPTA 083. Actividades de Difusión 295. INIA Tacuarembó, Uruguay. 31-37 pp. 2002.
- [13] GREINER, S.P.; ROUSE, G.H.; WILSON, D.E.; CUNDIFF, L.V.; WHEELER, T.L. The relationship between ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 81:676–682. 2003.
- [14] GRESHAM, J.D. Real time ultrasound beef cattle applications: Internacional Study guide. Daniel M. J. (Ed). In: partial fulfillment of University Scholars Designation at the University of Tennessee at Martin. 21-39 pp. 2006.
- [15] GUERRA, M.T.; TRUJILLO, B.E.; CERÓN, M.M. Estimación de polimorfismos del gen de leptina bovino en poblaciones de las razas criollas Hartón del Valle, Blanco Orejinegro (BON) y en la raza Brahman. **Rev. Col. Cien. Pec.** 18 (3): 215-221. 2005.
- [16] HALE, C.S.; HERRING, W.O.; JOHNSON, G.S.; SHIBUYA, H.; LUBAHN, D.B.; KEISLER, D.H. Evaluation of the leptin gene as a possible marker of carcass traits un angus Cattle. University of Missouri Beef and Dairy Research Report. 25-27pp. 1999.
- [17] HAEGEMAN, A.; VAN ZEYEREN, A.; PEELMAN, L.J. New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. **Anim. Genet.** 31: 79. 2000.
- [18] HOUGH, J. The Importance of Correct Contemporary Grouping 2006.. Senepol Cattle Breeders Association. On line: http://www.senepolcattle.com/importance_of_contemporary_grouping. 2 de febrero de 2008.
- [19] JOHNS, J.V.; BRACKELSBURG, P.O.; MARCHELLO, M.J. Use of real time ultrasound to determine carcass lean and fat in beef steers from various live and carcass measurements. Iowa State Univ. Beef and Sheep Res. Rep. A.S. Leaflet R1020, Ames. 1993.
- [20] KONONOFF, P.J.; DEOBALD, H.M.; STEWART, E.L.; LAYCOCK, A.D.; MARQUESS, F.L.S. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade, and carcass weight of beef cattle. **J. Anim. Sci.** 83:927-932. 2005.
- [21] LAGONIGRO, R.; WIENER, P.; PILLA, F.; WOOLLIAMS, J. A.; WILLIAMS, J. L. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. **Anim. Genet.** 34: 371-373. 2003.
- [22] LIEFERS, S.C.; TE PAS, M.F.W.; VEERKAMP, R.F.; VAN DER LENDE, T. Associations Between Leptin Gene Polymorphisms and Production, Live Weight, Energy Balance, Feed Intake and Fertility in Holstein Heifers. **J. of Dairy Sci.** 85: 1633-1638. 2002.
- [23] LOBATO, J.F.; BARCELLOS, O.J. Efeitos da utilização de pastagem melhorada no pós-parto e do desmame aos 100 ou 180 dias de idade no desempenho reprodutivo de vacas de corte. **Rev. Bras. de Zoot.** 21: 385-395. 1992.
- [24] MÁEAJOVÁ, M.; LAMOŠOVÁ, D.; ZEMAN, M. Role of leptin in farm animals: a Review. **J. Vet. Med. A.** 51: 157-166. 2004.
- [25] MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLETSKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucl. Acid. Res.** 16: 1215. 1988.
- [26] PATTERSON, D.C.; MOORE, C.A.; STEEN, R.W. The effects of plane of nutrition and slaughter weight on the performance and carcass composition of continental beef bulls given high forage diets. **Anim. Prod.** 58: 1 41-47. 1994.
- [27] RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP. Versión 3.3: Population genetics software for exact test and ecumenicism. **J. Hered** 86:248-249. 1995.
- [28] ROBELIN, J.; DAENICKE, R. Variations of net requirements for cattle growth with liveweight, liveweight gain, breed and sex. **Ann. Zoot** 29 HS: 15-30. 1980.
- [29] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS) SAS/STAT™ SAS users guide for windows environment 9.1 Ed, Cary, SAS Institute Inc. 2006
- [30] STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; BEATTIE, C.W. The bovine homologue of the obese gene maps to chromosome 4. **Mammal Gen.** 7:399-400. 1996.
- [31] SUGIMOTO, M.; KUZUOKA, S.; YAYOTA, C.; SATO, Y. The effects of grazing and supplemental protein concentrations during the grazing period on subsequent finishing performance and carcass quality in Japanese Black cattle steers. **Anim. Sci. J.** 75(1): 29-35. 2004.
- [32] TESSANNE, K.; HINES, H.C.; DAVIS, M.E. Relationships of Polymorphisms in the Bovine Leptin Gene with Differences in Beef Carcass Traits. **Research and Reviews: Beef and Sheep**. Special Circular. 170pp. 1999.
- [33] THOMAS, M.G.; ENNS, R.M.; HALLFORD, D.M.; KEISLER, D.H.; OSEIDAT, B.S.; MORRISON, C.D.; HERNÁNDEZ, J.A.; BRYANT, W.D.; FLORES, R.; LÓPEZ, R.; NARRO, L. Relationships of metabolic hormones and serum glucose to growth and reproductive development in performance tested Angus, Brangus, and Brahman bulls. **J. Anim. Sci.** 80: 757–767. 2002.
- [34] VAN VLECK, L.D. Contemporary groups for Genetic Evaluations. **J. Dairy. Sci.** 70: 2456-2464. 1987.
- [35] WILKINS, R.J.; DAVEY, H.W. A polymorphic microsatellite in the bovine leptin gene. **Anim. Genet.** 28: 370. 1997.
- [36] WILSON, D.E. Application of ultrasound for genetic improvement. **J. Anim. Sci.** 70:973-983. 1992.
- [37] WILLIAMS, A.R. Ultrasound applications in beef cattle carcass research and management. **J. Anim. Sci.** 80: E183–E188. 2002.