



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Estudio de asociación genómica para características de crecimiento en las razas bovinas Criollas Blanco Orejinegro y Romosinuano**

**Diego Hernan Bejarano Garavito**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de producción  
animal.

Bogotá, Colombia

2016

# **Estudio de asociación genómica para características de crecimiento en las razas bovinas Criollas Blanco Orejinegro y Romosinuano**

**Diego Hernan Bejarano Garavito**

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al  
título de:

**Magister en Producción Animal**

Director (a):

PhD., Magister y Zootecnista Carlos Manrique Perdomo

Codirector (a):

PhD., Magister y Zootecnista Rodrigo Martínez Sarmiento

Línea de Investigación:

Genética y mejoramiento animal

Grupo de Investigación:

Recursos genéticos y biotecnología animal

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de producción  
animal.

Bogotá, Colombia

2016

## **Agradecimientos**

El presente trabajo de investigación se desarrolló gracias a la colaboración de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), que aportó los recursos económicos y la información necesaria para el desarrollo de este trabajo, a la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia que por medio de la Beca "Claude Vericel" me permitió adelantar mis estudios de posgrado, así mismo al Director de tesis Dr. Carlos Manrique y al Codirector Dr. Rodrigo Martínez, quienes mediante sus conocimientos, disposición y ayuda incondicional aportaron al cumplimiento de los objetivos propuestos en este trabajo de investigación, finalmente agradezco de la manera más sincera e infinita a mi novia Milady Avila Suarez, por su apoyo y comprensión durante la elaboración de esta tesis, y por sus incontables aportes a mi vida.

## Resumen

Las características relacionadas con el crecimiento son de gran importancia para la industria del ganado de carne, dado que afectan de manera directa la rentabilidad de las ganaderías, debido a esto, hay un gran interés en la comprensión de la estructura genética que controla este tipo de rasgos, pues al incluir esta información en la valoración genética de los animales, es posible mejorar la precisión en los procesos de selección. En este estudio, información de 52mil Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNP) obtenida a partir de dos poblaciones de ganado Criollo Colombiano (Blanco Orejinegro-BON y Romosinuano-ROMO), fue usada para desarrollar un estudio de asociación genómica (GWAS) para rasgos de crecimiento, basado en la metodología de *single-step genomic-BLUP*, este GWAS permitió identificar 28 regiones de interés en la raza BON, y 26 regiones en la raza ROMO, que están asociadas con 53 posibles genes candidatos, que incluyen algunos con un rol conocido en la regulación del crecimiento, tales como LEPR (receptor de la leptina), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), LEP (leptina), TG (Tiroglobulina), Myf5 (factor miogénico 5) y PLAG1 (zinc finger); es de resaltar que en los cromosomas 14 y 23 se identificó dos regiones con efecto común para varias de las características evaluadas en las dos razas, esto sugiere que en estas regiones existen algunos genes candidatos con funciones asociadas a la regulación del crecimiento en este tipo de ganado. Estos resultados pueden ser incluidos en la evaluación genética de estas razas, para mejora la exactitud en la estimación de valores genéticos.

**Palabras clave:** Razas Criollas, Ganado de Carne, BovineSNP50, peso al nacimiento, crecimiento postnatal, Polimorfismo de Nucleótido Simple (SNP), QTL.

# **Genome-wide association study for growth traits in Blanco Orejinegro and Romosinuano creole cattle.**

## **Abstract**

The growth traits are of great importance for the beef industry, since they directly affect the profitability of the herds, because of this, there is great interest in the understanding the underlying genomic structure influencing these traits, when using this information in the genetic evaluation programs, it is possible to increase the accuracy in the selection in livestock. In this study, information of 52k single nucleotide polymorphisms (SNPs) obtained from two populations of Colombian Creole Cattle (Romosinuano-ROMO and Blanco Orejinegro-BON) was used to perform a genome-wide association study (GWAS) for growth traits, based on the single-step genomic- BLUP methodology, this GWAS identified 28 genomic regions with important effect in BON breed, and 26 regions in ROMO breed, which were associated with 53 positional potential candidate genes, including some of them with a role in growth regulation, such as LEPR (leptin receptor), HGF (hepatocyte growth factor), LEP (leptin), TG (thyroglobulin), Myf5 (myogenic 5 factor), and PLAG1 (zinc finger). It is noteworthy that in chromosomes 14 and 23 there are two regions with common effects for traits evaluated in the two breeds, this suggests that in these regions there are some candidate genes with functions related to the regulation of body weight in this type of cattle. These results may be included in genetic evaluations of these breeds, to improve the accuracy in estimating breeding values.

**Keywords:** creole cattle, beef cattle, BovineSNP50, birth weight, postnatal growth, single nucleotide polymorphism (SNP), quantitative trait loci (QTL).

# Contenido

	Pág.
	<b>Resumen III</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>VII</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>VIII</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Capítulo 1. Marco Referencial: uso de información genómica en el mejoramiento genético del ganado bovino.</b> .....	<b>4</b>
1.1 Introducción .....	4
1.2 Mejoramiento genético en animales de granja .....	5
1.3 Uso de información Genómica en animales de granja .....	8
1.4 Herramientas de genotipado a gran escala en las evaluaciones genómicas.....	11
1.5 Imputación de genotipos.....	12
1.6 Análisis de Asociación Genómica (GWAS) .....	16
1.7 Selección Genómica (GS) .....	21
1.8 Población de referencia .....	23
1.9 Mejoramiento genético en el ganado Criollo Colombiano.....	25
1.10 Bibliografía .....	26
<b>2. Capítulo 2: Niveles de desequilibrio de ligamiento y distribución de frecuencias alélicas en las razas de ganado Blanco Orejinegro y Romosinuano utilizando un chip de SNP de media densidad.</b> .....	<b>37</b>
2.1 Resumen .....	37
2.2 Introducción .....	38
2.3 Materiales y métodos .....	41
2.4 Resultados .....	42
2.5 Discusión.....	47
2.6 Conclusión .....	51
2.7 Bibliografía .....	51
<b>3. Capítulo 3: Estudio de asociación genómica para características de crecimiento en ganado Blanco Orejinegro y Romosinuano.</b> .....	<b>56</b>
3.1 Resumen .....	56
3.2 Introducción .....	57

3.3	Materiales y métodos .....	59
3.4	Resultados .....	65
3.5	Discusión.....	83
3.6	Conclusión .....	103
3.7	Bibliografía .....	103
<b>4.</b>	<b>Discusión, conclusiones y recomendaciones.....</b>	<b>118</b>
4.1	Discusión.....	118
4.2	Conclusiones .....	141
4.3	Recomendaciones .....	142
4.4	Bibliografía .....	142
<b>A.</b>	<b>Anexo: QTL y genes asociados a las regiones de interés.....</b>	<b>160</b>
<b>B.</b>	<b>Anexo: interacciones entre genes dentro de la red de genes generada usando GeneMANIA.....</b>	<b>169</b>
<b>C.</b>	<b>Anexo: redes de genes funcionales que se destacaron dentro de la red general.....</b>	<b>172</b>

## Lista de figuras

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1-1:</b> Número de registros fenotípicos requeridos en la población de referencia para conseguir una precisión deseada del valor genómico de cría (0,5 a 0,7), dado el valor de heredabilidad de la característica evaluada.....	24
<b>Figura 2-1:</b> Distribución de Minor Allele Frequencies (MAF) para cada raza <sup>1</sup> . ....	43
<b>Figura 2-2:</b> Proporción de SNPs para varias categorías de minor allele frecuencias (MAF) calculadas para cada cromosoma autosómico en las razas ROMO (a) y BON (b).....	44
<b>Figura 2-3:</b> Caída promedio del LD ( $r^2$ ) de 0 a 200 Kb en las razas BON (a) y ROMO (b), comparación entre razas (c) y caída del LD ( $r^2$ ) de 0 a 500 Kb en las dos razas (d). ....	46
<b>Figura 3-2:</b> Caída del Desequilibrio de Ligamiento (LD) de 0 a 200 Kb en las razas BON y ROMO.....	68
<b>Figura 3-3:</b> Manhattan Plots del genome-wide association study (GWAS) para características de crecimiento en la raza ROMO1. ....	71
<b>Figura 3-4:</b> Manhattan Plots del genome-wide association study (GWAS) para características de crecimiento en la raza BON1.....	74
<b>Figura 3-5:</b> Regiones de interés identificadas en el BTA14 <sup>1</sup> .....	77
<b>Figura 3-6:</b> Regiones de interés identificadas en el BTA23 <sup>1</sup> . ....	78
<b>Figura 3-7:</b> Gene network generada usando GeneMANIA. ....	98

## Lista de tablas

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1-1:</b> Marcadores moleculares usados para evaluar la diversidad genética..	9
<b>Tabla 1-2:</b> Chip para genotipado de SNP disponibles comercialmente .....	11
<b>Tabla 2-1:</b> Distribución de SNP por categorías de MAF y promedio de MAF para las razas BON y ROMO.....	43
<b>Tabla 2-2:</b> Desequilibrio de Ligamiento ( $r^2$ ) entre pares (N) de SNPs separados por diferentes distancias en todos los autosomas.....	47
<b>Tabla 3-1:</b> Estadística descriptiva para las características de crecimiento evaluadas en las razas BON y ROMO.....	66
<b>Tabla 3-2:</b> Componentes de varianza y heredabilidad estimada para las características de crecimiento evaluadas en las razas BON y ROMO.....	69
<b>Tabla 3-3:</b> Ventanas de 4 SNP adyacentes obtenidas en el GWAS para las cuatro características evaluadas en las razas ROMO y BON.....	73
<b>Tabla 3-4:</b> Regiones genómicas asociadas con características de crecimiento en ganado BON y ROMO, y posibles genes candidatos (PGC) posicionales identificados .....	79
<b>Tabla 3-5:</b> Lista de genes implicados en la red de co-expresión creada usando GeneMANIA, con el respectivo número de conexiones para cada gen. ....	100
<b>Tabla 3-6:</b> Vías de enriquecimiento de genes identificadas por la Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID version 6.7). ....	102

# Introducción

En Colombia existe un grupo de razas Criollas, que se originaron a partir del ganado que ingreso al país durante la conquista española, a pesar de que estas razas tienen un origen taurino (*Bos taurus*), son reconocidas por sus características de adaptación, rusticidad y eficiencia reproductiva bajo condiciones tropicales (Chase Jr. et al. 1997; Elzo et al. 1998; Martínez et al. 2005; Scharf et al. 2010; Martínez et al. 2012b), que son el resultado de un proceso de selección natural, de más de 500 años, que se ha dado bajo las fuertes condiciones medioambientales que predominan en el trópico. Sin embargo, a pesar de estas características, durante las últimas décadas la población de ganado Criollo Colombiano se ha reducido drásticamente debido a los cruzamientos absorbentes con razas introducidas, principalmente ganado cebuino (*Bos indicus*), dada esta problemática el gobierno nacional a través del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) ha implementado programas de conservación y promoción, evitando la extinción de algunas de estas razas y permitiendo incrementar sustancialmente su tamaño poblacional (Vásquez et al. 2007). Actualmente, a pesar de los esfuerzos realizados aún sigue primando la utilización de razas foráneas mejoradas sobre las razas Criollas locales, situación que se presenta principalmente porque el desempeño productivo del ganado Criollo ha sido subvalorado con respecto a las razas mejoradas (Vásquez et al. 2007).

Como una estrategia para enfrentar esta problemática, CORPOICA con el apoyo del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, ha venido implementado programas de selección y mejoramiento genético en razas Criollas, que se basan en el uso de información genómica para estimar el mérito genético de los animales, buscando mejorar la identificación y selección de reproductores superiores para características de importancia económica. De acuerdo con los reportes de la literatura esta metodología de selección permite incrementar de manera significativa la tasa de ganancia genética, logrando obtener una mayor productividad acumulada en cada generación (Meuwissen et al. 2001; Schaeffer 2006; Hayes et al. 2009a; Miller 2010; Meuwissen et al. 2013), con lo cual es posible mejorar

la eficiencia productiva y la competitividad del ganado Criollo, buscando incrementar la utilización eficiente de estas razas, y de esta forma lograr una mayor participación en los sistemas productivos locales.

Bajo este contexto, el primer paso para poder estimar el mérito genético de un animal a partir de la información del ADN, es identificar en la población de referencia marcadores moleculares que se encuentren en desequilibrio de ligamiento (LD) con genes o mutaciones causales que regulan la expresión fenotípica de la característica de interés (Meuwissen et al. 2001; Snelling et al. 2010; Rolf et al. 2010). En este momento, gracias a los avances tecnológicos que se han dado en el campo de la genética molecular existen tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, que han permitido identificar una gran cantidad de variaciones en el ADN de los animales, principalmente polimorfismos de nucleótido simple (SNP), los cuales pueden explicar las diferencias que existen en el desempeño productivo de los animales (Meuwissen et al. 2001; Adams 2008; Fan et al. 2010; Eggen 2012).

La conformación de grandes colecciones de SNP y la disponibilidad de métodos eficientes para su genotipado a gran escala, han permitido desarrollar una nueva metodología para la búsqueda de genes candidatos, que se conoce como análisis de asociación genómica o GWAS por sus siglas en inglés (Genome-wide Association Study) (Hirschhorn and Daly 2005; Visscher et al. 2007; Lee et al. 2008). En GWAS se utiliza la información de miles de SNP distribuidos de manera uniforme en todo el genoma, junto con información del fenotipo y del pedigrí de los animales, para llevar a cabo el análisis de asociación e identificar los genes o elementos reguladores que controlan la variación fenotípica de las características de interés económico (Chan et al. 2009; Goddard and Hayes 2009; Zhang et al. 2012), esta es una técnica muy eficiente para identificar genes relacionados con rasgos complejos de carácter cuantitativo y se ha convertido en el método de elección para estudiar los mecanismos genéticos que controlan la expresión de este tipo de características (MacLeod et al. 2010; Zhang et al. 2012). La información que se obtiene de estos análisis se usa para mejorar la estimación de los valores genéticos de cría (*breeding values* - EBV) bajo un enfoque que se conoce como selección genómica (WGS) (Meuwissen et al. 2001), permitiendo mejorar la exactitud de las estimaciones y corroborar las relaciones de parentesco que existen entre los individuos de la población, esto permite incrementar de manera importante el progreso genético poblacional (Meuwissen et al. 2001;

Dodds et al. 2007; Hayes et al. 2009a; VanRaden et al. 2009; Hayes and Goddard 2010; Meuwissen et al. 2013; Winkelman et al. 2015).

Dados estos antecedentes, el objetivo de este trabajo de investigación fue desarrollar un estudio de asociación genómica (GWAS) para cuatro características de crecimiento (Peso al nacimiento -PN-, peso al destete -PD-, peso a los 16 meses -P16m- y peso a los 24 meses -P24m-) en dos poblaciones de ganado Criollo colombiano (razas Romosinuano y Blanco Orejinegro), buscando identificar regiones genómicas que expliquen una parte importante de la variación genética asociada a estas características, y su posible relación con genes candidatos que puedan participar en la regulación del crecimiento en este tipo de animales, afectando en última instancia, la capacidad de identificar y seleccionar los animales con mejor mérito genético para rasgos de crecimiento, esto teniendo en cuenta que la tasa de crecimiento es un factor importante a tener en cuenta en el mejoramiento genético del ganado Criollo Colombiano, pues al realizar selección genética para el peso de los animales en diferentes etapas de su vida productiva, los ganaderos que utilizan estas razas pueden reducir el tiempo requerido para alcanzar el peso de mercado, lo cual repercute directamente sobre los ingresos de la empresa ganadera (Barwick and Henzell 2005; Alberta Agriculture and Rural Development. 2006; Doran et al. 2014).

# 1. Capítulo 1. Marco Referencial: uso de información genómica en el mejoramiento genético del ganado bovino.

## 1.1 Introducción

Por lo general, en el ganado bovino las predicciones de la varianza genética aditiva y de los valores genéticos de cría (*breeding values* - EBV) son estimados a través del mejor predictor lineal insesgado (BLUP) que utiliza ecuaciones de modelos mixtos basados en información fenotípica y en la matriz de relaciones de parentesco entre individuos de una misma población (Henderson 1976). La estimación de EBV es de gran importancia para el proceso de selección de reproductores y es una herramienta valiosa para mejorar la ganancia genética anual en características de interés económico, especialmente para rasgos con moderada a alta heredabilidad (Grossi et al. 2015). En la actualidad, los avances tecnológicos que se han dado en el campo de la genética molecular han impulsado el desarrollo de nuevas tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, que han permitido identificar una gran cantidad de variaciones en el ADN de los animales, principalmente polimorfismos de nucleótido simple (SNP) (Zhang et al. 2012), la disponibilidad de métodos eficientes para el genotipado de SNPs a gran escala, como los microarrays de alta densidad (o chips de SNP) (Van Tassell et al. 2008; Matukumalli et al. 2009), junto con el perfeccionamiento de los métodos estadísticos requeridos para el análisis de la información genómica (Nicolazzi et al. 2015), han ido transformando la evaluación genética tradicional en un nuevo enfoque que se conoce como selección genómica (Meuwissen et al. 2001; Goddard and Hayes 2007; Hayes et al. 2009a; Miller 2010; Meuwissen et al. 2013).

En la selección genómica además de la información fenotípica y genealógica, se incluye los genotipos de una gran cantidad de marcadores genéticos (principalmente SNP) distribuidos en el genoma de los animales, para predecir los valores genómicos de cría (*genomic breeding values* - GEBV), esto permite remplazar los valores de parentesco basados en

genealogías por valores de relación genómica, que dan una estimación más precisa de la relación genética que existe entre dos individuos y permite eliminar las falsas asignaciones de pedigrí, esta metodología también tiene en cuenta el efecto de sustitución alélica de los marcadores, permitiendo en conjunto obtener estimaciones más precisas de los valores genéticos (Meuwissen et al. 2001; Hayes et al. 2009a; Rolf et al. 2010). El uso de información genómica para la estimación de valores genéticos de cría (GEBV), se ha convertido en una práctica habitual en varias especies de ganado, debido a su rápida expansión y a los costos asequibles de la tecnología de genotipado (Hayes et al. 2009a; Meuwissen 2009; Snelling et al. 2010; Rolf et al. 2010; VanRaden et al. 2011; Meuwissen et al. 2013; Winkelman et al. 2015; Howard et al. 2015).

El auge de la información genómica también ha dado un nuevo impulso a la búsqueda de las mutaciones que subyacen a la variación fenotípica de rasgos complejos, mediante el desarrollo de estudios de asociación genómica (GWAS), que permiten analizar de manera individual cada SNP incluido en las plataformas de alta densidad, para encontrar variantes fuertemente asociadas con rasgos complejos de carácter cuantitativo (Lee et al. 2008; Goddard and Hayes 2009). En la actualidad, la técnica de GWAS se ha aplicado de manera exitosa al campo de la cría y la genética de animales de granja, y se han tenido algunos avances importantes, logrando identificar genes que afectan rasgos de importancia económica en el ganado bovino, tal como se describe en los trabajos de Zhang et al. (2012) y Sharma et al. (2015), quienes realizaron una recopilación de los resultados más relevantes obtenidos en una serie de GWAS realizados recientemente. Los resultados de este tipo de estudios han permitido mejorar la comprensión de los mecanismos genéticos que regulan la expresión de este tipo de rasgos en el ganado bovino.

## **1.2 Mejoramiento genético en animales de granja**

En poblaciones de animales de granja el mejoramiento genético busca seleccionar los machos y las hembras con mejor mérito genético para características de interés económico, buscando que su progenie tenga un desempeño superior con respecto al promedio de la generación actual. El desempeño de un individuo generalmente incluye una combinación de múltiples características, o rasgos, por lo que históricamente se ha buscado seleccionar los animales con mejor mérito genético para una o varias características de tipo productivo, reproductivo, funcional o de calidad. La estimación del mérito genético debería ser el

principal criterio para identificar y seleccionar los reproductores dentro de cualquier explotación ganadera (Dekkers 2012), sin embargo en países como Colombia esto difícilmente se cumple, pues en la mayoría de los casos la selección de los reproductores obedece a apreciaciones subjetivas basadas en los registros productivos de un animal o a resultados de ferias y exposiciones ganaderas.

La mayoría de rasgos de interés productivo son de carácter cuantitativo, es decir que son controlados por una gran cantidad de genes con efecto aditivo pequeño (Falconer and Mackay 1996), por lo tanto, el componente genético del mérito no puede ser observado, así que tiene que inferirse a partir de las observaciones hechas en los candidatos a selección o en sus parientes. Tradicionalmente para estimar el mérito genético de un animal, se han utilizado evaluaciones genéticas basadas en el análisis estadístico de grandes bases de datos, que contienen información genealógica y registros productivos de una población de animales (Henderson 1984; Lynch and Walsh 1998), a partir de esta información y empleando metodologías estadísticas que permiten integrar las ecuaciones del modelo mixto de Henderson, con el método de Máxima Verosimilitud Restringida (REML) que se usa para estimar parámetros genéticos (componentes de varianza y covarianza), esto unido al método del mejor predictor lineal insesgado de mínima varianza o BLUP (Best Linear Unbiased Predictor), permite estimar (predecir) el valor genético (VG) o valor de cría de un animal (Henderson 1975; Henderson 1984; Lynch and Walsh 1998). El VG es un indicador del desempeño productivo de la progenie de un individuo con respecto al promedio de la población actual (Lynch and Walsh 1998) y se define como la suma de los efectos aditivos de todos los loci (genes) que tiene el animal y que contribuyen a la variación genética de un rasgo con respecto al promedio de la población (Falconer and Mackay 1996).

La introducción de esta metodología de selección genética comenzó en las décadas de los 40 a los 60 en los países industrializados y su implementación fue posible gracias a los desarrollos computacionales que han facilitado el análisis de una gran cantidad de datos. La utilización de este tipo de metodología ha permitido generar razas y líneas genéticas cuyo nivel de productividad resulta muy superior al de poblaciones no mejoradas (esto unido también a una mejora en las condiciones de manejo, alimentación, sanidad, etc.) (Nauta et al. 2001; Nauta 2009).

Al seleccionar los animales por su valor genético es posible incrementar el desempeño productivo poblacional en cada generación (progreso genético), esto ha sido muy exitoso

en la industria del ganado de leche, la avicultura y la porcicultura, que durante los últimos 50 a 60 años han registrado grandes incrementos en la productividad del recurso animal. En el ganado de leche la selección de los toros, basada en su mérito genético, ha permitido incrementar la producción de leche, pasando de 6,000 kg/lactancia en el año 1960 a una producción actual de 10,000 kg/lactancia, lo que representa un incremento del 67% (Dekkers 2012); para pollo de engorde en el año 1960 se requerían hasta 100 días para alcanzar un peso de 2 kg, actualmente se alcanza en tan solo 40 días, con una mejora en la tasa de crecimiento, que paso de 25 a 100 g por día (Van Der Steen et al. 2005; Knowles et al. 2008).

Estos avances genéticos se han fundamentado en el aprovechamiento de la variación existente dentro de las poblaciones de animales, mediante una continua identificación y selección de los animales superiores de acuerdo a su valor genético estimado y usando principios de optimización económica para saber qué características modificar, seguido de un uso extensivo de los animales mejoradores mediante biotecnologías reproductivas, como la inseminación artificial, la superovulación, la aspiración folicular, la fertilización in vitro y la transferencia de embriones, esto en el caso de ganado bovino (Khatib 2015).

El mejoramiento genético tradicional (genética cuantitativa) ha sido muy exitoso para características de alta y media heredabilidad y en poblaciones que tienen una cantidad suficiente de información productiva y genealógica, sin embargo, esta metodología tiene algunas limitantes, que han restringido su aplicación para rasgos difíciles de seleccionar o en poblaciones donde la disponibilidad de datos de control productivo y el registro de genealogías son una limitante (Hayes and Goddard 2010). La selección tradicional depende en gran medida en las observaciones fenotípicas y esto trae ciertos inconvenientes, principalmente para característica de baja heredabilidad, donde las observaciones fenotípicas no representan de forma clara la genética del animal y por ende el progreso genético es reducido, igualmente para rasgos limitados al sexo, como la producción de huevos, la fertilidad de las hembras y la producción de leche, pues los registros productivos se toman a partir de las hijas del reproductor. La disponibilidad de información fenotípica también es una limitante para rasgos costosos o difíciles de medir como la resistencia a enfermedades, la calidad de la carne, eficiencia alimenticia, adaptación a estrés calórico y aquellos que se expresan al final de la vida productiva del animal, como la longevidad (Dodds et al. 2007; Hayes and Goddard 2010). También en animales jóvenes que aún no

tienen registros propios ni de sus descendientes la exactitud de la estimación de su valor genético es baja (Hayes and Goddard 2010).

Investigaciones recientes han sugerido que al incorporar la información del ADN (genómica) en los modelos de evaluación genética, se puede mejorar la precisión del valor genético estimado, lo que resultaría en una mayor respuesta a la selección para rasgos difíciles de mejorar y se reduce en cierta medida la dependencia que existe por registros fenotípicos (Meuwissen et al. 2001). En este momento gracias a los avances que se han dado en genética molecular la genómica se ha convertido en una tercera fuente de información para las evaluaciones genéticas, pues al combinar la información del genoma de los animales (genómica), con la información genealógica y con los registros productivos, se puede mejorar significativamente la exactitud de la estimación de los valores genéticos, principalmente en animales jóvenes y para características difíciles de seleccionar (Meuwissen et al. 2001). Además, al mejorar el conocimiento de los mecanismos de control genético que existen sobre los rasgos productivos se puede lograr que las evaluaciones genéticas sean menos dependientes de las observaciones fenotípicas (Hayes and Goddard 2010), esto no quiere decir que se pueda prescindir del registro de información productiva, pues esta sigue siendo igual o más importante que la información genómica.

### **1.3 Uso de información Genómica en animales de granja**

Las últimas tres décadas se han caracterizado por una serie de grandes descubrimientos y avances tecnológicos en el campo de la genética molecular, dentro de estos el más importante ha sido el proyecto genoma humano, que represento grandes avances en el campo de la genómica y permitió desarrollar nuevas tecnologías de secuenciación de alto rendimiento (Adams 2008; Eggen 2012), las cuales han permitido la secuenciación y mapeado del genoma de la mayoría de especies de animales de granja (Liu et al. 2009; Fan et al. 2010), creando nuevas oportunidades de mejora genética que antes estaban fuera del alcance de los investigadores.

A partir de la secuenciación del genoma bovino, completada en el 2009 (Liu et al. 2009; The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium et al. 2009), se ha logrado identificar una gran cantidad de variaciones en el ADN que puede explicar las diferencias que existen en el desempeño productivo de los animales (Fan et al. 2010). Estas variaciones en la

secuencia del genoma se conocen como marcadores de ADN y existen varios tipos (Tabla 1-1), sin embargo, en este momento los de mayor relevancia y los más utilizados en el área de la genómica son los polimorfismos de nucleótido simple o SNP. Un SNP se origina cuando ocurre una mutación puntual en la secuencia de ADN, cambiando un nucleótido por otro, si esta mutación ocurre en una región codificante (exón) es posible que se produzca una variación en la secuencia de aminoácidos de una proteína y esto puede afectar la expresión fenotípica de una determinada característica (Seidel 2010). Los SNPs son abundantes en todo el genoma, bi-alélicos, de único locus y en el genoma del *Bos Taurus* existen cerca de 40 millones de SNP situados aproximadamente a intervalos de 3 kb, los cuales han sido identificados a partir de la secuenciación del genoma de animales de varias razas (Seidel 2010).

**Tabla 1-1:** Marcadores moleculares usados para evaluar la diversidad genética

Tipo de marcador	Polimorfismo	Método de detección	Información de secuencia	Especificidad de locus	Reproducibilidad
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	Restriction enzyme cutting of DNA Gel electrophoresis Membrane blotting Hybridization Visualization	No requiere	Si	Buena
VNTR	Variable no. of tandem repeats A) Minisatellites (repeat unit 10 to 100 bp)	Multilocus fingerprints (similar to RFLP)	No requiere	No	Media
	B) Microsatellites (repeat unit 1 to 5 bp)	Multilocus fingerprints (similar to RFLP)	No requiere	No	Media
		Single-locus PCR, PAGE	Requiere (para diseñar primers)	Si	Muy buena
RAPD	Random amplified polymorphic DNA	PCR, arbitrary primer (10 bp) Gel electrophoresis	No requiere	No	Pobre
AFLP	Amplified fragment length polymorphism	Restriction enzyme cutting of DNA Ligation PCR (2 steps) PAGE	No requiere	No	Buena
SNP	Single nucleotide polymorphisms	Allele-specific PCR Single-strand conformation polymorphism PCR-RFLP Hybridization to high-density DNA arrays Primer extension Mass spectrometry	Requiere	Si	Muy buena

Adaptada de Soller et al. (2006)

Para el análisis de este tipo de marcadores, se han desarrollado tecnologías de genotipado que permiten evaluar de forma simultánea una gran cantidad de SNPs distribuidos de manera uniforme en todo el genoma de la especie de interés. De estas metodologías las más recientes incluyen análisis genómicos mediante plataformas de genotipado a gran escala (Dekkers 2012), como las desarrolladas por las casas comerciales Illumina®, Affymetrix® que comercialmente se conocen como BeadChip o Array de SNP, e incluyen desde varios miles hasta un poco más de 700,000 SNP.

Para el ganado bovino se han desarrollado varios tipos de BeadChip con diferente densidad de SNPs, existe uno de baja densidad que permite evaluar 6,909 SNPs de forma simultánea (IlluminaSNP7K), existe otro de alta densidad, el “BovineHD” que cuenta con sondas específicas para evaluar 777,962 SNP diferentes y uno de densidad media o 50K (BovineSNP50) que incluye sondas para 54,600 SNP altamente informativos distribuidos de manera uniforme en todo el genoma bovino (Matukumalli et al. 2009; Illumina Inc. 2016), estos Chip fueron diseñados a partir de animales *Bos Tauros*, sin embargo, recientemente la compañía Neogen sacó al mercado un Chip de densidad media (80K) para animales *Bos Indicus* y cuatro nuevos Chip, dos de baja (GGP Bovine LD 30K) y dos de media densidad (GGP Bovine 150k) que son específicos para ganado de leche y ganado de carne, e incluyen varios SNPs adicionales que han demostrado tener un impacto importante en la susceptibilidad a enfermedades y en el rendimiento productivo, igualmente incluyen SNP que optimizan los procesos de imputación desde y así otras plataformas de genotipado (Neogen Corporation 2015a; Neogen Corporation 2015b).

El BovineSNP50® desarrollado por Illumina en el año 2007, ha sido la plataforma de genotipado más utilizada para investigación en el ganado bovino, principalmente en estudios de asociación genómica (GWAS), en programas de selección asistida por marcadores (selección genómica), en la identificación de variantes del número de copias y en el análisis de relaciones genéticas entre razas (Eck et al. 2009; Qwabe et al. 2013). Esta tecnología ha tenido una amplia aceptación en los GWAS, dado que en este tipo de estudios se utilizan modelos estadísticos que permiten combinar la información generada a partir del genotipado a gran escala, con la información de características fenotípicas, con el propósito de identificar regiones del genoma (genes candidatos o QTL) que permitan explicar la estructura genética de los rasgos cuantitativos de interés, esto en términos de la distribución del tamaño de los efectos genéticos que contribuyen a la variación de una determinada característica (Dekkers 2012). La información genómica también ha sido

utilizada con bastante éxito en las evaluaciones genéticas para mejorar la predicción del mérito genético de los animales (Meuwissen et al. 2001; Schaeffer 2006; VanRaden et al. 2009; Hayes et al. 2009).

## 1.4 Herramientas de genotipado a gran escala en las evaluaciones genómicas.

Las primeras experiencias de evaluación genómica se dieron en el ganado lechero de los Estados Unidos en 2008 (Wiggans et al. 2011). Para los primeros 2 años, sólo estaba disponible el Chip de genotipado BovineSNP50 (Illumina Inc., San Diego, CA) (Illumina Inc. 2016). El Chip de genotipado de alta densidad BovineHD (Illumina Inc. 2010) salió al mercado en enero de 2010, pero no se ha utilizado de forma rutinaria debido a su costo y a los pequeños incrementos en la precisión de las estimaciones que este proporciona (Harris et al. 2011; VanRaden et al. 2013; Wiggans et al. 2013). En septiembre de 2010 salió al mercado el Chip Bovine3K de baja densidad (Illumina Inc. 2016) con el propósito de aumentar la adopción de las pruebas genómicas reduciendo costos (Wiggans et al. 2012), el chip Bovine3K utiliza la química Golden Gate en lugar de la química Infinium utilizada en el chip BovineSNP50 (Wiggans et al. 2013), lo cual resultó en una ligera pérdida de precisión en el llamado de genotipos (CallRate) y por ende una mayor frecuencia de genotipos faltantes (Wiggans et al. 2013), para mejorar estos problemas, en septiembre de 2011 fue lanzado el chip de genotipado BovineLD con 6,909 SNP (Illumina Inc. 2016), este chip utiliza la química de Infinium (Boichard et al. 2012), y se puede personalizar añadiendo SNP de interés (Wiggans et al. 2013).

**Tabla 1-2:** Chip para genotipado de SNP disponibles comercialmente

<b>Nombre comercial</b>	<b>Label</b>	<b>Número de SNPs</b>
Illumina Bovine3K*	3K	2,900
Illumina BovineLD	6K	6,909
Beef LD GeneSeek Genomic Profiler*	8K	8,762
Indicus LD GeneSeek Genomic Profiler	20K	19,721
GeneSeek GGP Bovine LDv4 (Beef & Dairy)	30K	30,125
Illumina BovineSNP50	50K	54,609
GeneSeek Genomic Profiler (GGP) Dairy HD*	90iK	74,085
GeneSeek Genomic Profiler Beef HD*	90tK	76,992
GeneSeek GGP Indicus HD	80K	74,677
GeneSeek GGP Bovine 150k (Beef & Dairy)	150K	138,962
Illumina BovineHD	777K	787,799

Adaptada de Piccoli et al. (2014). \*plataformas descontinuadas.

En febrero de 2012, la empresa GeneSeek (Lincoln, NE) dio a conocer un chip especializado para ganado de leche denominado “GeneSeek Genomic Profiler (GGP)”, basado en el BovineLD de Illumina, con 1,745 SNP adicionales para evaluación genómica y SNP específicos de pruebas patentadas para genes de interés (Neogen Corporation, 2013), los SNP adicionales fueron incluidos para mejorar la imputación al llenar gaps (vacíos) entre SNP en los cromosomas e incrementar la superposición con SNP del Bovine3K, así como facilitar la imputación de alelos de microsatélites para la validación de parentesco (McClure et al. 2012). Los SNP para pruebas de un solo gen se incluyeron para minimizar el número de pruebas individuales que se realizan normalmente para dichos genes, en particular para los toros. Actualmente GeneSeek tiene en el mercado chip de baja y media densidad para ganado de carne y de leche, y también chips de diferente densidad (20K y 80K) para poblaciones *B. Indicus*, entre otros (Tabla 1-2).

Los chips BovineLD y GGP de GeneSeek han tenido un uso generalizado, pues dan una mayor precisión sobre el chip Bovine3K, el chip GGP se ha utilizado en mayor medida para los toros, ya que proporciona pruebas para genes específicos (Wiggans et al. 2013). Sin embargo, el chip BovineSNP50 sigue siendo el estándar de la industria, pero recientemente con el desarrollo de métodos de imputación de genotipos, el genotipado con chips de baja densidad (BovineLD y GGP) se ha incrementado, pues en comparación con chips de media densidad presentan una muy pequeña reducción en la exactitud, pero aproximadamente a la mitad del costo, siendo una opción eficiente para el genotipado de poblaciones grandes (Wiggans et al. 2013).

En comparación con los chips de SNP, la secuenciación podría proporcionar casi toda la información acerca de las variaciones del ADN de un animal, incluyendo SNP, variaciones del número de copia (CNV), delaciones/inserciones, etc., en los próximos años, la reducción en el costo de la secuenciación, permitirá que todos los individuos de la población de estudio puedan ser secuenciados y utilizar esta información para realizar los GWAS y para la selección genómica (Meuwissen and Goddard 2010; Zhang et al. 2012).

## **1.5 Imputación de genotipos**

Las nuevas tecnologías de genotipado han estimulado el desarrollo de nuevas metodologías de análisis, incluyendo procedimientos para inferir o imputar SNPs de paneles de genotipado de alta densidad para animales que han sido genotipados con una densidad

menor (Piccoli et al. 2014). Los procedimientos para imputación de genotipos permiten predecir genotipos de SNP faltantes, lo cual es muy importante para juntar en un mismo análisis datos de animales evaluados con diferentes paneles de genotipado, pues debido a diferentes factores, tales como, razones económicas, la continua evolución de las tecnologías de genotipado disponibles o la coexistencia de productos de diferentes empresas que compiten en el mercado, los animales podrían ser genotipados con diferentes chips de SNP (Druet et al. 2010).

Muchas situaciones prácticas pueden dar lugar a genotipos faltantes, algunos genotipos pueden perderse por razones técnicas durante el proceso de genotipado o durante la edición de datos, estos casos deben dar lugar a pequeños porcentajes de genotipos faltantes (Druet et al. 2010), también buscando reducir costos, la genotipificación se puede realizar sólo para algunos SNP seleccionados y luego utilizando herramientas estadísticas se predicen los genotipos para los SNP restantes (Stephens and Scheet 2005), o puede existir interés en unir datos de diferentes experimentos para llevar a cabo un meta-análisis con mayor alcance (Barrett et al. 2008), en estos casos diferentes paneles de genotipado podrían haber sido utilizados en experimentos independientes, al combinar esta información en un único análisis se pueden tener grandes fracciones de genotipos faltantes (Druet et al. 2010), en estos casos es posible imputar SNP de paneles de referencia de alta densidad o datos de secuenciación a paneles de SNP de menor densidad (Marchini et al. 2007; Huang et al. 2009c), este proceso es muy importante dado que los análisis de selección (GS) y asociación (GWAS) genómica requieren que todos los animales tengan densidades de genotipado equivalentes (Piccoli et al. 2014), además la densidad de marcadores es uno de los factores que afecta la exactitud de las predicciones genómicas y de GWAS (Habier et al. 2009; Hayes et al. 2009a; Meuwissen 2009; Brito et al. 2011), puesto que con una mayor densidad de SNP existe una mayor probabilidad de desequilibrio de ligamiento (LD) entre los marcadores evaluados y las mutaciones causales, sin embargo, una mayor densidad de marcadores también significa mayor costo de la genotipificación (Ma et al. 2013).

La imputación de genotipos ha sido muy importante en poblaciones de ganado de leche, pues el intercambio de datos entre diferentes instituciones, permite el análisis en conjunto de todos los datos disponibles, resultando en una mayor precisión de la selección genómica y en la mejora del poder de detección de QTL por WGAS, estudios recientes han mostrado que la exactitud de la selección genómica aumenta de manera constante con el tamaño del

conjunto de datos de evaluación (Marchini et al. 2007; Servin and Stephens 2007; VanRaden et al. 2009).

Para reducir el costo de la genotipificación de grandes poblaciones, es posible utilizar paneles de diferentes densidades para los diferentes subgrupos de la población, por ejemplo, paneles de baja densidad que son menos costosos se pueden utilizar para vacas o crías y paneles de alta densidad para los toros, luego con imputación se pueden inferir los genotipos faltantes, para que todos los animales tengan la misma cantidad de información (Habier et al. 2009; Sargolzae et al. 2010; Dassonneville et al. 2012; Jiménez-Montero et al. 2013b). Actualmente en el ganado Bovino, el chip más utilizado es el BovineSNP50.v2 BeadChip (Illumina Inc. 2016) y las estrategias de imputación se centran en predecir los genotipos faltantes en el chip de 6K a partir de los SNP contenidos en el chip de 50K (Jiménez-Montero et al. 2013b). La disponibilidad del BovineHD BeadChip (Illumina Inc.) con cerca de 800.000 SNP (800K) abre la posibilidad de realizar imputación desde 50K a este panel de alta densidad (HD), pues bajo los costos actuales la genotipificación de una gran población de referencia con el panel de HD sería un costo imposible de asumir. Sin embargo, al realizar el genotipado con HD de un subconjunto de la población de referencia y luego imputar el resto de los genotipos a los demás animales de la población, puede ser una estrategia eficaz, esto si la capacidad predictiva de las evaluaciones genómicas posteriores excede la obtenida antes de la imputación (Jiménez-Montero et al. 2013b). La imputación en paneles de SNP de LD (3K y 6K) a paneles de HD, debe evaluarse en términos de la capacidad predictiva (Jiménez-Montero et al. 2013b) y requiere de una imputación de dos pasos, haciendo uso de todos los genotipos del panel de densidad media disponibles (Piccoli et al. 2014).

La imputación de genotipos se basa en datos disponibles para estos marcadores en un subconjunto de animales de la población; la estructura de la población y las frecuencias alélicas de los marcador genotipados, tienen una influencia importante sobre la exactitud de la imputación (Druet et al. 2010; Dassonneville et al. 2011; Hickey et al. 2012). Se han propuesto varios métodos para realizar el proceso de imputación, que dependen de la densidad de SNP y del desequilibrio de ligamiento (DL) (Stephens and Scheet 2005; Marchini et al. 2007; Browning and Browning 2009). Varios software especializados han sido desarrollados para mejorar la eficiencia y la precisión en la imputación de genotipos (Scheet and Stephens 2006; Browning and Browning 2007; Kong et al. 2008; Howie et al. 2009; VanRaden et al. 2011), estos software utilizan métodos de imputación basados en

información del desequilibrio de ligamiento entre marcadores dentro de la población, algunos también utilizan la información del pedigrí, mientras que otros no la tienen en cuenta (Ma et al. 2013; Piccoli et al. 2014). Por ejemplo, AlphaImpute (Hickey et al. 2012), FImpute (Sargolzaei et al. 2014) y Findhap (VanRaden et al. 2011) utilizan información de pedigrí, aunque no es obligatoria para FImpute; estos métodos fueron desarrollados para ser utilizados en animales y plantas, puesto que permiten utilizar de manera eficiente la información genealógica disponible. Otros programas como Beagle (Browning and Browning 2009) e IMPUTE2 (Howie et al. 2009), que fueron desarrollados inicialmente para genética humana, por lo general no utilizan la información de pedigrí para la imputación de genotipos en poblaciones de animales (Ma et al. 2013).

De estos programas Beagle se ha convertido en una de las opciones más utilizadas en ganado lechero para la imputación de grandes conjuntos de datos de genotipos (3K, 6K y 50K) (Boichard et al. 2012; Erbe et al. 2012), este software utiliza un modelo de Hidden Markov para inferir la fase de haplotipos y para completar los genotipos faltantes (Browning and Browning 2009), su mejor precisión de imputación y algunas ventajas computacionales en comparación con otros métodos han sido ampliamente reportados (Nothnagel et al. 2009; Calus et al. 2011; Sun et al. 2012; Segelke et al. 2012; Jiménez-Montero et al. 2013b), sin embargo Piccoli et al. (2014) reportan que FImpute v.2.2 es superior a Beagle v.3.3 en varios escenarios de imputación evaluados en términos de precisión y tiempo de cálculo requerido, tanto para el panel de 50K como el de 777K (Piccoli et al. 2014), resultados similares fueron reportados por Sargolzaei et al. (2014). El software FImpute utiliza un algoritmo determinista y hace uso de la información genealógica, esta información se tiene en cuenta sólo cuando está disponible en el pedigrí (Piccoli et al. 2014), la imputación con este programa se basa en un método de ventana móvil superpuesta, en el que la información de parientes cercanos se utiliza primero (haplotipos de mayor tamaño) y la información de los parientes más lejanos se utiliza posteriormente acortando el tamaño de la ventana (Sargolzaei et al. 2014). El algoritmo asume que todos los animales están relacionados entre sí a un cierto grado, que va desde relaciones de parentescos muy estrechas hasta muy distantes (Piccoli et al. 2014).

Piccoli et al. (2014) evaluaron la exactitud de diferentes estrategias de imputación a partir de paneles de LD (Illumina-Bovine3K, Illumina-BovineLD (6K), BeefLD-GGP (8K-GeneSeek), no-comercial-15K y el IndicusLD-GGP (20K-GeneSeek)) a paneles de SNP de

mayor densidad (Illumina-BovineSNP50 (50K) y el Illumina-BovineHD (777K)), también evaluaron la imputación de 50K, GGP-IndicusHD (90iK- GeneSeek ) y GGP-BeefHD (90tK- GeneSeek) al panel de 777K, finalmente evaluaron la imputación al panel de 50K de padres no genotipados con cuatro o más hijos en la población de referencia. Encontrando que todos los paneles de baja densidad, excepto el panel de 3K, se pueden utilizar para imputar al panel de 50K con tasas promedio de concordancia superiores a 0.94. Los paneles de 50K, 90iK y 90tK se pueden utilizar para imputar al panel 777K con tasas promedio de concordancia superiores a 0.94, en cuanto a los animales no genotipados estos fueron imputados al panel de 50K con una tasa promedio de concordancia de 0.95 utilizando FImpute v.2.2. Debido a las diferencias en los algoritmos disponibles y a los diferentes usos de las fuentes de información, la superioridad de los diversos métodos de imputación puede diferir dependiendo de cada escenario, por lo tanto, es necesario encontrar el método de imputación más óptimo y la estrategia para ser utilizado en cada población de interés (Ma et al. 2013).

## 1.6 Análisis de Asociación Genómica (GWAS)

El concepto y las primeras herramientas para identificar genes relacionados con rasgos complejos a nivel de todo el genoma se remontan a la década de 1990 (Dentine 1992). El mapeo de loci de rasgos cuantitativos o QTL, por sus siglas en inglés (quantitative trait loci), era el método más utilizado para detectar regiones del ADN asociadas con la variación genética de características de interés. Hasta la fecha, se han reportado miles de QTL para una gran cantidad de rasgos (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>), sin embargo, la mayoría de los QTL reportados fueron detectados utilizando marcadores microsatélites que tienen una baja resolución de mapeo y el intervalo de confianza (IC) cubre más de 20 cM (Lipkin et al. 1998; Schreiweis et al. 2005; Soller et al. 2006), lo que representa un área muy grande dentro de un cromosoma, basándose en esta información es difícil detectar genes importantes para los rasgos de interés, por lo tanto la identificación de mutaciones causales subyacentes a los QTLs ha sido un desafío para la genética de animales domésticos (Goddard and Hayes 2009).

Si bien, en las últimas décadas el mapeo de QTL responsables de características de importancia económica ha logrado resultados notables, permitiendo identificar algunos genes individuales que parecen tener efectos importantes sobre la expresión de ciertas características, utilizando esta información se ha tratado de aumentar las frecuencias de

los alelos favorables en estos loci, buscando mejorar el fenotipo de los animales (selección asistida por marcadores), sin embargo, los éxitos de esta estrategia fueron pocos, y su efecto sobre la tasa de progreso genético en las poblaciones donde se aplicó fue escaso, comparado con la selección tradicional (Goddard and Hayes 2009). Dado que la mayoría de los rasgos de interés en los animales de granja son de carácter cuantitativo, su expresión está regulada por efectos poligenéticos, por lo cual, bajo la metodología tradicional de mapeo de QTL se hacía difícil poder explicar toda la variación genética asociada a estos rasgos complejos, principalmente debido a la baja densidad de marcadores utilizados en este tipo de estudios (Goddard and Hayes 2009), en este momento, los estudios de asociación genómica (GWAS), que utilizan una alta densidad de polimorfismos de nucleótido simple (SNP), ofrece una nueva manera de abordar este problema (Wang et al. 2012; Wang et al. 2014; Gualdrón Duarte et al. 2014).

Los análisis de GWAS, se presentan como un método altamente eficiente para realizar mapeo genómico de alta resolución, que permite identificar marcadores en el ADN que se encuentran en desequilibrio de ligamiento con mutaciones causales ubicadas en regiones genómicas (genes) que contribuyen a la variación natural de las características fenotípicas del ganado (Dekkers 2012). Los GWAS primero fueron utilizados en el análisis de enfermedades humanas, donde han permitido grandes avances en el conocimiento de los mecanismos genéticos de enfermedades complejas, como el cáncer (Hirschhorn and Daly 2005; Klein et al. 2005; Visscher et al. 2007; McCarthy et al. 2008; Lee et al. 2008), posteriormente, este tipo de análisis se extendieron al campo de la genética animal (Chan et al. 2009), esto como resultado de la secuenciación del genoma de la mayoría de especies domésticas, que ha permitido identificar un gran número de SNP distribuidos a lo largo del genoma de los animales (Zimin et al. 2009; Zhang et al. 2011). Actualmente, existen métodos rentables y eficientes para el genotipado de SNPs a gran escala, como las plataformas basadas en chips de SNPs con diferente densidad de marcadores (Van Tassell et al. 2008; Matukumalli et al. 2009), esto sumado al perfeccionamiento de los métodos estadísticos requeridos para el análisis de la información genómica (Nicolazzi et al. 2015), han impulsado el desarrollo de este tipo de análisis.

Los GWAS utilizan la información genómica de un grupo de animales obtenida a partir de plataformas de genotipado a gran escala (SNP), junto con la información fenotípica y el pedigrí para llevar a cabo el análisis de asociación e identificar genes o elementos reguladores que son importantes para las características de interés (Meuwissen et al. 2001;

Chan et al. 2009; MacLeod et al. 2010). En comparación con las estrategias tradicionales de mapeo de QTL, GWAS confiere importantes ventajas tanto en el poder de detectar variantes causales con efectos modestos y en la definición de regiones genómicas más estrechas que albergan genes de interés (Hirschhorn and Daly 2005).

La teoría de los GWAS, al igual que la selección genómica, se basa en la predicción del efecto de los marcadores genéticos (SNP) que están en desequilibrio de ligamiento con mutaciones causales o genes que controlan la expresión de rasgos de interés, por lo tanto, una alta densidad de marcadores en el chip utilizado es suficiente para garantizar que existe DL entre uno o varios marcadores y la mutación causal o el gen de interés (Hayes and Goddard 2010; Zhang et al. 2012). Bajo este principio, cuando el genotipado se realiza con el chip de 50K, se tiene una distancia promedio entre marcadores de 37Kb (Matukumalli et al. 2009), con esta densidad de marcadores se garantiza que por lo menos uno o más de los SNP evaluados estarán cerca o dentro de los aproximadamente 22,000 genes que contiene el genoma bovino y por desequilibrio de ligamiento se heredaran conjuntamente, por lo tanto cada SNP asociado a alguno de los genes que controlan una determinada característica puede explicar una fracción importante de su variación fenotípica (Hayes et al. 2009a; Dekkers 2012). En el caso del genotipado con el chip de alta densidad (777,962 SNPs) se tiene una distancia entre marcadores alrededor de 5-10Kb, con lo cual se incrementa sustancialmente la probabilidad de detectar la mutación causal dentro del gen (Hayes et al. 2009a), en el chip de 7k la distancia promedio entre marcadores es de 258Kb, por lo cual, al utilizar esta plataforma se recomienda realizar imputación a un chip de mayor densidad (Fidanza et al. 2001).

Durante los últimos años se han publicado varios artículos que describen el uso de GWAS en la búsqueda de los genes que controlan la variación de rasgos de importancia económica en el ganado bovino, que incluyen características como producción y calidad de la leche (Bolormaa et al. 2010; Mai et al. 2010; Cole et al. 2011; Bouwman et al. 2011; Meredith et al. 2012; Streit et al. 2013; Minozzi et al. 2013; Fontanesi et al. 2014), fertilidad y otras características reproductivas (McClure et al. 2010; Sahana et al. 2010; Sahana et al. 2011; Hawken et al. 2012; Minozzi et al. 2013; Höglund et al. 2014; Hyeong et al. 2014b; Grossi et al. 2015), respuesta a enfermedades (Sahana et al. 2013; Sahana et al. 2014; Thompson-Crispi et al. 2014; Spek and Van 2015; Tiezzi et al. 2015), consumo de alimento y eficiencia alimenticia (Sherman et al. 2009; Lindholm-Perry et al. 2012a; Rolf et al. 2012; Lindholm-Perry et al. 2012b; Lu et al. 2013a; Saatchi et al. 2014a), respuesta a estrés calórico

(Dikmen et al. 2013) y rasgos relacionados con crecimiento, calidad de la carne y características de la canal (Gutiérrez-Gil et al. 2009; Snelling et al. 2010; Lee et al. 2010b; McClure et al. 2010; Pausch et al. 2011; Bolormaa et al. 2011b; Bolormaa et al. 2011a; Kim et al. 2011; Bolormaa et al. 2011c; Littlejohn et al. 2011; Markey et al. 2012; Peters et al. 2012; Nishimura et al. 2012; Lindholm-Perry et al. 2012a; Lu et al. 2013a; Lee et al. 2013b; Lu et al. 2013b; Utsunomiya et al. 2013; Buzanskas et al. 2014; Hyeong et al. 2014a; Doran et al. 2014; Martínez et al. 2014; Wu et al. 2014; Grossi et al. 2015; Lemos et al. 2016), entre otras. Es evidente la cantidad de análisis GWAS que se han realizado durante los últimos años en poblaciones de diferentes razas bovinas, para una gran variedad de características, los resultados obtenidos en muchos de estos estudios han permitido mejorar la comprensión de los mecanismos genéticos que regulan rasgos interés económico en el ganado, así como la mejora de los programas de mejoramiento genético en las razas evaluadas (Sharma et al. 2015), también se ha evidenciado que los GWAS son importantes para rasgos con baja heredabilidad, pues el conocimiento del control genético de este tipo de características puede mejorar su respuesta a la selección (Dikmen et al. 2013).

Sin embargo, también 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 (Pryce et al. 2010; Zhang et al. 2012; Lu et al. 2013a; Sharma et al. 2015). La no coincidencia de asociación puede deberse a 3 razones, el descubrimiento original fue un falso positivo, 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 hay una falta de potencia estadística en el modelo utilizado, ya sea en la población donde se encontró la asociación o en la población donde se quiere validar, o en ambas, lo cual 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; Lu et al. 2013a), para mejorar este tipo de problemas se requiere un tamaño de población más grande y una mayor densidad de los marcadores (SNPs) (Zhang et al. 2012; Sharma et al. 2015). Por lo anterior, no es válido extrapolar los resultados de un GWAS realizado en una raza o población específica a otra población no relacionada.

Uno de los principales factores que está asociado a la identificación y reporte de falsas asociaciones en los GWAS, es el método estadístico utilizado para el análisis. Por lo que, es necesario diseñar de manera detallada el estudio y cumplirlo a cabalidad, teniendo especial atención en el control de calidad de los datos, que es uno de los pasos más importantes para reducir al mínimo los errores en un estudio de GWAS (Sharma et al. 2015). Para garantizar el éxito del análisis se deben cumplir dos premisas fundamentales, en primer lugar, la población objeto de estudio debe ser genéticamente homogénea, es decir, no debe haber ninguna estratificación de la población, en segundo lugar, todos los animales (muestras) deben representar unidades estadísticamente independientes extraídas de esa población, si esto no se cumple, las pruebas de asociación pueden dar lugar a falsas asociaciones o pueden tener tasas altas de error tipo I (Sharma et al. 2015). También es importante tener en cuenta que los individuos emparentados comparten tanto alelos causales, como no causales, y el desequilibrio de ligamiento entre estos sitios pueden dar lugar a artefactos (señales falsas de asociación), un método eficaz para reducir la presentación de los artefactos fue desarrollado inicialmente en el campo del mejoramiento animal, con los modelos mixtos que manejan la estructura de la población por cuenta de la cantidad de covarianza fenotípica, estos modelos se han aplicado de manera exitosa en GWAS (Wang et al. 2012; Wang et al. 2014), y pueden reducir de manera importante el número de falsas asociaciones declaradas como significativas (Sharma et al. 2015).

La mayoría de resultados de análisis GWAS que han sido publicados, han confirmado la antigua hipótesis de que los rasgos de tipo cuantitativo, tales como la producción de leche y el crecimiento, están influenciados por un gran número de genes dispersos por todo el genoma, y que el efecto de cada uno de estos genes es bastante pequeño, llevando a la conclusión de que los QTL individuales generalmente tienen un efecto pequeño (0,1% a 13,5%) sobre la mayoría de rasgos complejos, para los cuales más del 50% de la variación genética reside en regiones genómicas con efectos menores, que son del orden de la magnitud que se esperaría bajo un modelo de herencia altamente poligénica (Dekkers 2012), por lo que se requiere un gran número de QTL para poder explicar la variación de un rasgo en particular (Buckler et al. 2009; Hayes and Goddard 2010). Dada esta estructura de efectos poligénicos, el impacto de la selección asistida por marcadores bajo el enfoque tradicional, es reducido, pues esta metodología utiliza sólo un pequeño número de marcadores en desequilibrio de ligamiento con los QTL más significativos (Dekkers 2004; Bernardo 2008). Esta problemática ha llevado al desarrollo de una metodología alternativa

que permite incorporar una gran cantidad de información del ADN (SNP) en los modelos de evaluación genética, este nuevo enfoque se conoce como selección genómica o WGS (*Wole Genomic Selection*) (Meuwissen et al. 2001; Goddard and Hayes 2007; Hayes et al. 2009a; Miller 2010; Meuwissen et al. 2013).

## 1.7 Selección Genómica (GS)

Los métodos tradicionales de mejoramiento animal utilizan datos fenotípicos y las relaciones de parentesco entre los individuos para estimar valores genéticos y a partir de esta información tomar decisiones sobre la selección y apareamiento de los animales, buscando mejorar rasgos de importancia económica (Piccoli et al. 2014). Los recientes avances en la tecnología del ADN, han permitido la secuenciación completa del genoma de varias especies, incluyendo el ganado bovino (The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium et al. 2009) y han impulsado el desarrollo de las nuevas tecnologías de genotipado a gran escala, que permiten obtener información para una gran cantidad de SNP a un costo razonable y asequible para los productores (Van Tassell et al. 2008). Actualmente gracias al desarrollo de nuevas metodologías estadísticas y a la disponibilidad de equipos computacionales de mayor capacidad de procesamiento, es posible incorporar en las evaluaciones genéticas una gran cantidad de información genómica (SNP) generada con plataformas de genotipado a gran escala, permitiendo mejorar la estimación de los valores de cría (DEP, APT); el uso potencial de la información genómica en mejoramiento animal fue propuesto inicialmente por Meuwissen et al. (2001).

En la selección genómica moderna (GS), que es esencialmente una versión a mayor escala de la selección asistida por marcadores, se utiliza la información de un panel de SNP de alta densidad que cubren todo el genoma, e incluye marcadores (SNP) que pueden tener efectos altos, moderados y bajos para determinada característica, asumiendo que todos los genes que afectan una característica de interés están en desequilibrio de ligamiento con al menos uno de los marcadores evaluados (Hayes et al. 2009a), por lo tanto, la teoría de la selección genómica se basa en la predicción de los efectos de marcadores genéticos en desequilibrio de ligamiento con los loci que controlan los rasgos cuantitativos (QTL) (Meuwissen et al. 2001; Goddard and Hayes 2007; Hayes et al. 2009a; Hayes and Goddard 2010; Meuwissen et al. 2013), esta Información se combina con la genealogía y con los registros productivos para llevar a cabo la estimación del mérito genético de los animales (*genomic breeding values* - GEBV), mediante modelos estadísticos que son muy similares

al BLUP tradicional (Habier et al. 2009; Hayes et al. 2009a; VanRaden et al. 2009; Misztal et al. 2009; Habier et al. 2013).

La GS implica dos cambios importantes con respecto a la metodología tradicional, en primer lugar se incluyen en el modelo de estimación todos los SNPs con efecto significativo como efectos fijos y en segundo lugar la matriz de parentesco se reemplaza por una matriz de relaciones genómicas, que da una estimación más exacta del grado de parentesco de los individuos (Hayes et al. 2009a; Panigrahi and Parida 2012; van Marle-Köster et al. 2013). Actualmente, se utilizan diferentes enfoques para la estimación de los GEBV, los métodos de predicción genómica se pueden clasificar en dos categorías, la primera hace referencia a los métodos que hacen una regresión de los registros fenotípicos directamente sobre los marcadores (SNP) y la segunda incluye los métodos que calculan los valores genómicos como una función de las relaciones genómicas utilizando una estructura de co-varianza entre individuos (de los Campos et al. 2009; Jiménez-Montero et al. 2013a). El primer grupo incluye varias aproximaciones de regresión bayesiana, como Bayes-A, Bayes-B (Meuwissen et al. 2001) 2001), y el B-LASSO (*Bayesian least absolute shrinkage selection operator*) (Park and Casella 2008). El segundo grupo incluye métodos que calculan una matriz de relaciones genómicas construida a partir de los marcadores, como los métodos de genómico BLUP (G-BLUP) (VanRaden et al. 2009), o Single Step G-BLUP (Misztal et al. 2009), que utilizan esta matriz para incrementar o sustituir la matriz de parentesco tradicional basada en el pedigrí (Jiménez-Montero et al. 2013b).

Debido a que los GEBV se calculan sobre la base de la información genómica en lugar de la información fenotípica, la GS permite realizar la selección en una etapa temprana de la vida del animal, logrando disminuir el intervalo generacional especialmente en razas de leche, mientras mantiene la exactitud del valor genético estimado en un nivel aceptable (Meuwissen et al. 2001; Schaeffer 2006; Hayes et al. 2009a; Hayes and Goddard 2010; Meuwissen et al. 2013; Winkelman et al. 2015). Esta metodología de selección también es importante para características de baja heredabilidad, rasgos limitados al sexo y los rasgos que son difíciles o costosos de medir, como rasgos de la carcasa, resistencia a enfermedades, longevidad y fertilidad, entre otros, para los cuales se puede lograr una mejor respuesta a la selección, incrementando su progreso genético (Dodds et al. 2007; Hayes and Goddard 2010).

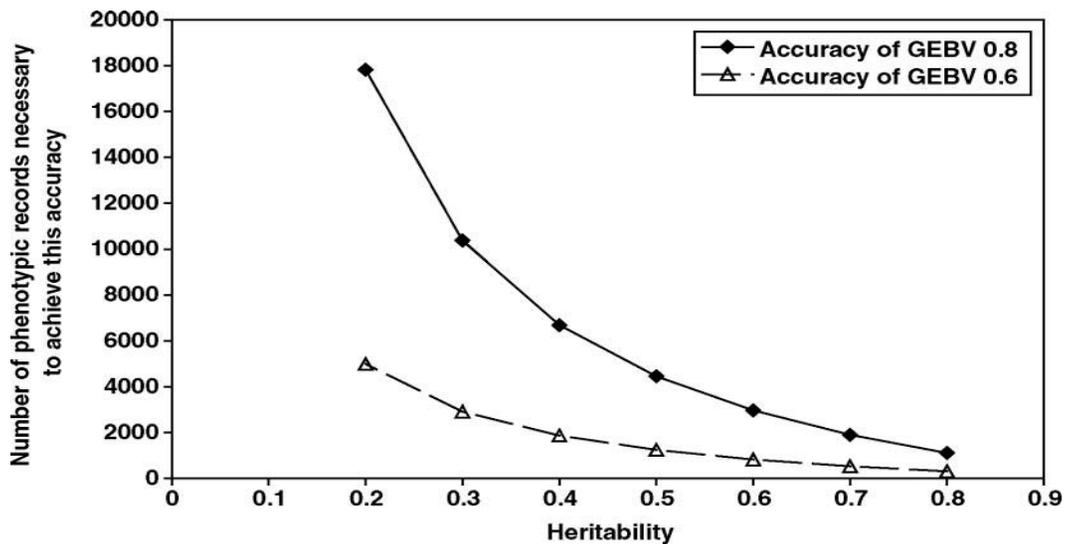
En muchos países la selección genómica se ha aplicado con éxito en los programas de mejoramiento genético del ganado de leche permitiendo acelerar el progreso genético y reducir el costo y el tiempo asociado a las pruebas de progenie, también ha sido implementada con diferentes grados de éxito en otros programas de cría de animales, incluyendo cerdos, aves y ganado de carne. (Hayes et al. 2009b; Miller 2010; Hayes and Goddard 2010; Van Eenennaam et al. 2014). En ganado de leche (Holstein) la implementación de la GS inició en el año 2006 (de Roos et al. 2009), cuando los primeros paneles de SNP de alta densidad (HD) se hicieron asequibles para su aplicación en el ganado bovino (Van Tassell et al. 2008), los primeros valores genómicos de cría (GEBV) oficiales fueron proporcionados a los productores de leche en Nueva Zelanda en el año 2008 (Harris et al. 2008) y en enero de 2009 para los Estados Unidos (Wiggans et al. 2009). A pesar de la mejora en la fiabilidad de las estimaciones genéticas que se obtiene al utilizar la evaluación genómica (Wiggans et al. 2011), el precio comercial del chips de SNP que se utiliza para el genotipado, limita su uso a hembras y machos elite dentro de las ganaderías, restringiendo su aplicación de forma masiva a toda la población (Jiménez-Montero et al. 2013b).

## 1.8 Población de referencia

Para realizar estudios de GWAS y más aún para implementar programas de SG se requiere conformar un conjunto de datos de referencia con animales que tengan información genómica y también información fenotípica para las características más relevantes del sistema de producción, este grupo de animales se conoce como población de referencia. Para conformar la población de referencia se requiere realizar un análisis previo de la estructura de la población, para determinar animales fundadores efectivos e identificar animales informativos, posteriormente basados en la información de parámetros genéticos y la cantidad de descendientes por individuo se seleccionan los animales que deben ser genotipados para conformar dicha población (Clark et al. 2012; van Marle-Köster et al. 2013). La distribución y el tamaño de este conjunto de datos, combinado con los métodos utilizados para predecir el valor de cría, regulan la precisión alcanzada en muchos esquemas de selección, al igual que la confiabilidad de los análisis de asociación genómica (GWAS) (Goddard and Hayes 2009), es importante evaluar la existencia de subestructura dentro de la población de referencia (Patterson et al. 2006), y de existir, se debe tener en cuenta en el modelo de análisis implementado (Voorman et al. 2011).

Las predicciones genómicas se basan en las relaciones genéticas directas (parentesco genómico) entre la población de referencia (individuos con información genómica y antecedentes fenotípicos) y aquellos animales cuyo valor genético va a ser predicho (Habier et al. 2007; Hayes et al. 2009a; Habier et al. 2010), por lo tanto, a partir de la población de referencia es posible estimar con una buena exactitud el VG de un animal que tienen datos genómicos pero no tienen información fenotípica, siempre y cuando este animal tenga una adecuada conexión genética con la población de referencia (Hayes and Goddard 2010).

**Figura 1-1:** Número de registros fenotípicos requeridos en la población de referencia para conseguir una precisión deseada del valor genómico de cría (0,5 a 0,7), dado el valor de heredabilidad de la característica evaluada.



Se asume un tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ) = 1.000 y una distribución normal de los efectos de QTL. Derivado de la fórmula de Goddard (2009) citado por Hayes et al. (2009a).

El tamaño óptimo del conjunto de datos de referencia dependerá del tamaño efectivo de la población y de la heredabilidad de la característica objeto de selección; para rasgos de heredabilidad baja se requiere una población de referencia de mayor tamaño (Figura 1-1) (Hayes et al. 2009a). Debido al costo de la medición de fenotipos en un gran número de individuos, se ha sugerido que el uso de una población de referencia, puede ser una manera rentable de aprovechar las ventajas de la selección genómica, reduciendo los costos de la toma de información fenotípica (Goddard and Hayes 2007; Van Der Werf et al. 2010).

## **1.9 Mejoramiento genético en el ganado Criollo Colombiano**

En Colombia existen un grupo de razas de ganado bovino, que descienden de los ganados que fueron introducidos por los Españoles durante la época de la conquista, estas razas a pesar de tener un origen taurino, son reconocidas por sus características de adaptación y eficiencia reproductiva, descrita en términos de su rusticidad (resistencia a enfermedades y parásitos, capacidad para utilizar forrajes de baja calidad nutricional) (Martínez et al. 2005; Martínez et al. 2011; Martínez et al. 2012b), buena fertilidad (intervalos entre partos inferiores a 470 días) (Vásquez et al. 2007; Martínez et al. 2011) y adaptación al trópico (tolerancia al calor) (Scharf et al. 2010); así como por una buena longevidad y un temperamento dócil (Chase Jr. et al. 1997; Elzo et al. 1998). Sin embargo, a pesar de estas características excepcionales, las poblaciones de ganado Criollo se han reducido drásticamente debido a los cruzamientos adsorbentes con razas foráneas, principalmente razas cebuinas, situación que ha llevado a que muchas de estas razas actualmente se encuentren en peligro de extinción (Martínez C. 2010).

Como una estrategia para enfrentar la problemática de los recursos genéticos locales el gobierno nacional, a través del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), financió la conformación y sostenimiento de los Bancos de Germoplasma, los cuales son administrados por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) (Martínez C. 2010). En la actualidad se cuenta con bancos de germoplasma in situ (Animales conservados vivos en el ambiente natural donde se desarrollaron), constituidos por nueve núcleos de razas Criollas, también existe un banco de germoplasma In vitro (Material genético –semen, ovocitos, o embriones, conservados bajo condiciones de criopreservación). Los Bancos de Germoplasma han permitido la conservación de algunas razas, evitando su extinción e incrementando sustancialmente su tamaño poblacional (Vásquez et al. 2007). El trabajo de Corpoica con los bancos de germoplasma se ha centrado en la caracterización, conservación y multiplicación de las razas Criollas, bajo la premisa de mantener niveles bajos de consanguinidad e incrementar la variabilidad genética dentro de la población (Gallego et al. 2005; Martínez and Perez 2007; Martínez et al. 2008a; Martínez et al. 2008b; Martínez et al. 2010; M-Rocha et al. 2012; Martínez et al. 2013; Martínez et al. 2014; Martínez et al. 2016), dentro de este esquema de conservación se dificulta el desarrollo de programas de selección y mejoramiento genético para características de interés productivo.

Consciente de la importancia de realizar programas de mejoramiento genético en el ganado Criollo, Corpoica ha puesto en marcha dos estrategias de selección, la primera inició en el año 2010 y consiste en el desarrollo de pruebas anuales de crecimiento en pastoreo para toretes de la razas ROMO y BON, este programa ha tenido gran acogida y ha logrado vincular criadores de razas Criollas ubicados en diferentes regiones del país (Martínez et al. 2012a). Los toros ganadores de cada prueba ingresan a un programa de producción de material seminal, que luego es distribuido a los ganaderos comerciales y a los bancos de germoplasma, se espera que a futuro esta metodología permita desarrollar pruebas de progenie para estos toros (Martínez et al. 2012a). La segunda estrategia inicio en el año 2013 y consiste en establecer núcleos base para el mejoramiento de las razas criollas, como fuente de selección de animales de alto valor genético en las razas Romosinuano, Blanco Orejinegro, Costeño con Cuernos y Sanmartinero, los cuales están ubicados en los centros de investigación de CORPOICA y en fincas de ganaderos particulares, estos núcleos son independientes de los Bancos de Germoplasma animal, por lo tanto no existen restricciones que limiten la selección genética para características de interés productivo. Para conformar estos núcleos se seleccionó animales con buenos valores genéticos para características de interés productivo, que habían realizado un aporte genético al banco de germoplasma, en este momento los núcleos cuentan con 120 a 200 hembras de cría, esto dependiendo de la raza, la meta es llegar a 300 vientres en cada núcleo. Actualmente dentro de los núcleos de mejoramiento de razas Criollas se está trabajando para implementar una estrategia de selección, que se basa en el uso de información del ADN (genómica) para estimar el mérito genético de los animales (Meuwissen et al. 2001), esto permite mejorar la identificación y selección de reproductores superiores para características de importancia económica, con lo cual es posible incrementar rápidamente el progreso genético poblacional en cada raza, sin descuidar las características de adaptación y rusticidad que son el principal valor agregado de estos animales (información tomada de los informes de ejecución agenda de investigación de Corpoica (2014 y 2015) presentados al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural).

## 1.10 Bibliografía

Adams J (2008) Sequencing the human genome: The contributions of Francis Collins and Craig Venter. *Nat Educ* 1:133.

Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, Brant SR, Silverberg MS, Taylor KD, Barmada MM et al. (2008) Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 40:955–62. doi: 10.1038/ng.175

- Bernardo R (2008) Molecular Markers and Selection for Complex Traits in Plants: Learning from the Last 20 Years. *Crop Sci* 48:1649. doi: 10.2135/cropsci2008.03.0131
- Boichard D, Chung H, Dasonneville R, David X, Eggen A, Fritz S, Gietzen KJ, Hayes BJ, Lawley CT, Sonstegard TS et al. (2012) Design of a bovine low-density snp array optimized for imputation. *PLoS One*. doi: 10.1371/journal.pone.0034130
- Bolormaa S, Hayes BJ, Hawken RJ, Zhang Y, Reverter A and Goddard ME (2011a) Detection of chromosome segments of zebu and taurine origin and their effect on beef production and growth. *J Anim Sci* 89:2050–60. doi: 10.2527/jas.2010-3363
- Bolormaa S, Hayes BJ, Savin K, Hawken R, Barendse W, Arthur PF, Herd RM and Goddard ME (2011b) Genome-wide association studies for feedlot and growth traits in cattle. *J Anim Sci* 89:1684–1697. doi: 10.2527/jas.2010-3079
- Bolormaa S, Neto LRP, Zhang YD, Bunch RJ, Harrison BE, Goddard ME and Barendse W (2011c) A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. *J Anim Sci* 89:2297–309. doi: 10.2527/jas.2010-3138
- Bolormaa S, Pryce JE, Hayes BJ and Goddard ME (2010) Multivariate analysis of a genome-wide association study in dairy cattle. *J Dairy Sci* 93:3818–33. doi: 10.3168/jds.2009-2980
- Bouwman AC, Bovenhuis H, Visker MHPW and van Arendonk JAM (2011) Genome-wide association of milk fatty acids in Dutch dairy cattle. *BMC Genet* 12:43. doi: 10.1186/1471-2156-12-43
- Brito F V, Neto J, Sargolzaei M, Cobuci J a and Schenkel FS (2011) Accuracy of genomic selection in simulated populations mimicking the extent of linkage disequilibrium in beef cattle. *BMC Genet* 12:80. doi: 10.1186/1471-2156-12-80
- Browning BL and Browning SR (2009) A unified approach to genotype imputation and haplotype-phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals. *Am J Hum Genet* 84:210–23. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.01.005
- Browning SR and Browning BL (2007) Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *Am J Hum Genet* 81:1084–97. doi: 10.1086/521987
- Buckler ES, Holland JB, Bradbury PJ, Acharya CB, Brown PJ, Browne C, Ersoz E, Flint-Garcia S, Garcia A, Glaubitz JC et al. (2009) The genetic architecture of maize flowering time. *Science* 325:714–8. doi: 10.1126/science.1174276
- Buzanskas ME, Grossi D a, Ventura R V, Schenkel FS, Sargolzaei M, Meirelles SLC, Mokry FB, Higa RH, Mudadu M a, da Silva MVGB et al. (2014) Genome-wide association for growth traits in Canchim beef cattle. *PLoS One* 9:e94802. doi: 10.1371/journal.pone.0094802
- Calus MPL, Veerkamp RF and Mulder HA (2011) Imputation of missing single nucleotide polymorphism genotypes using a multivariate mixed model framework. *J Anim Sci* 89:2042–9. doi: 10.2527/jas.2010-3297
- Chan EKF, Hawken R and Reverter A (2009) The combined effect of SNP-marker and phenotype attributes in genome-wide association studies. *Anim Genet* 40:149–56. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01816.x
- Chase Jr. CC, Hammond AC, Olson TA, Murphy CN, Tewolde A and Griffin JL (1997) Introduction of Romosinuano in the U.S.A. *Arch Latinoam Prod Anim* 5:57–71.
- Clark SA, Hickey JM, Daetwyler HD and van der Werf JHJ (2012) The importance of information on relatives for the prediction of genomic breeding values and the implications for the makeup of reference data sets in livestock breeding schemes. *Genet Sel Evol* 44:4. doi: 10.1186/1297-9686-44-4
- Cole JB, Wiggans GR, Ma L, Sonstegard TS, Lawlor TJ, Crooker BA, Van Tassell CP, Yang J, Wang S, Matukumalli LK et al. (2011) Genome-wide association analysis of thirty one production, health,

- reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. *BMC Genomics* 12:408. doi: 10.1186/1471-2164-12-408
- Dassonneville R, Brøndum RF, Druet T, Fritz S, Guillaume F, Guldbbrandtsen B, Lund MS, Ducrocq V and Su G (2011) Effect of imputing markers from a low-density chip on the reliability of genomic breeding values in Holstein populations. *J Dairy Sci* 94:3679–86. doi: 10.3168/jds.2011-4299
- Dassonneville R, Fritz S, Ducrocq V and Boichard D (2012) Short communication: Imputation performances of 3 low-density marker panels in beef and dairy cattle. *J Dairy Sci* 95:4136–40. doi: 10.3168/jds.2011-5133
- de los Campos G, Naya H, Gianola D, Crossa J, Legarra A, Manfredi E, Weigel K and Cotes JM (2009) Predicting quantitative traits with regression models for dense molecular markers and pedigree. *Genetics* 182:375–85. doi: 10.1534/genetics.109.101501
- de Roos APW, Hayes BJ and Goddard ME (2009) Reliability of genomic predictions across multiple populations. *Genetics* 183:1545–53. doi: 10.1534/genetics.109.104935
- Dekkers JCM (2004) Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *J Anim Sci* 82 E-Suppl:E313–328.
- Dekkers JCM (2012) Application of genomics tools to animal breeding. *Curr Genomics* 13:207–12. doi: 10.2174/138920212800543057
- Dentine MR (1992) Marker-assisted selection in cattle. *Anim Biotechnol* 3:81–93.
- Dikmen S, Cole JB, Null DJ and Hansen PJ (2013) Genome-wide association mapping for identification of quantitative trait loci for rectal temperature during heat stress in Holstein cattle. *PLoS One* 8:e69202. doi: 10.1371/journal.pone.0069202
- Dodds KG, McEwan JC and Davis GH (2007) Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small Rumin Res* 70:32–41. doi: 10.1016/j.smallrumres.2007.01.010
- Doran AG, Berry DP and Creevey CJ (2014) Whole genome association study identifies regions of the bovine genome and biological pathways involved in carcass trait performance in Holstein-Friesian cattle. *BMC Genomics* 15:837. doi: 10.1186/1471-2164-15-837
- Druet T, Schrooten C and de Roos a PW (2010) Imputation of genotypes from different single nucleotide polymorphism panels in dairy cattle. *J Dairy Sci* 93:5443–5454. doi: 10.3168/jds.2010-3255
- Eck SH, Benet-Pagès A, Flisikowski K, Meitinger T, Fries R and Strom TM (2009) Whole genome sequencing of a single *Bos taurus* animal for single nucleotide polymorphism discovery. *Genome Biol* 10:R82. doi: 10.1186/gb-2009-10-8-r82
- Eggen A (2012) The development and application of genomic selection as a new breeding paradigm. *Anim Front* 2:10–15. doi: 10.2527/af.2011-0027
- Elzo MA, Manrique C, Ossa G and Acosta O (1998) Additive and nonadditive genetic variability for growth traits in the Turipaná Romosinuano-Zebu multibreed herd. *J Anim Sci* 76:1539–49.
- Erbe M, Hayes BJ, Matukumalli LK, Goswami S, Bowman PJ, Reich CM, Mason BA and Goddard ME (2012) Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. *J Dairy Sci* 95:4114–29. doi: 10.3168/jds.2011-5019
- Falconer DS and Mackay TFC (1996) *Introduction to quantitative genetics*, 4th ed. Longman Group Ltd., Essex England
- Fan B, Du Z-Q, Gorbach DM and Rothschild MF (2010) Development and Application of High-density SNP Arrays in Genomic Studies of Domestic Animals. *Asian-Australasian J Anim Sci* 23:833–847. doi: 10.5713/ajas.2010.r.03

- Fidanza J, Glazer M, Mutnick D, McGall G and Frank C High capacity substrates as a platform for a DNA probe array genotyping assay. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 20:533–8. doi: 10.1081/NCN-100002329
- Fontanesi L, Calò DG, Galimberti G, Negrini R, Marino R, Nardone A, Ajmone-Marsan P and Russo V (2014) A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle. *Anim Genet* 45:576–80. doi: 10.1111/age.12164
- Goddard ME and Hayes BJ (2007) Genomic selection. *J Anim Breed Genet* 124:323–30. doi: 10.1111/j.1439-0388.2007.00702.x
- Goddard ME and Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nat Rev Genet* 10:381–91. doi: 10.1038/nrg2575
- Grossi D do A, Buzanskas ME, Grupioni NV, de Paz CCP, Regitano LC de A, de Alencar MM, Schenkel FS and Munari DP (2015) Effect of IGF1, GH, and PIT1 markers on the genetic parameters of growth and reproduction traits in Canchim cattle. *Mol Biol Rep* 42:245–51. doi: 10.1007/s11033-014-3767-4
- Gualdrón Duarte JL, Cantet RJC, Bates RO, Ernst CW, Raney NE and Steibel JP (2014) Rapid screening for phenotype-genotype associations by linear transformations of genomic evaluations. *BMC Bioinformatics* 15:246. doi: 10.1186/1471-2105-15-246
- Gutiérrez-Gil B, Williams JL, Homer D, Burton D, Haley CS and Wiener P (2009) Search for quantitative trait loci affecting growth and carcass traits in a cross population of beef and dairy cattle. *J Anim Sci* 87:24–36. doi: 10.2527/jas.2008-0922
- Habier D, Fernando RL and Dekkers JCM (2007) The impact of genetic relationship information on genome-assisted breeding values. *Genetics* 177:2389–97. doi: 10.1534/genetics.107.081190
- Habier D, Fernando RL and Dekkers JCM (2009) Genomic selection using low-density marker panels. *Genetics* 182:343–353. doi: 10.1534/genetics.108.100289
- Habier D, Fernando RL and Garrick DJ (2013) Genomic BLUP decoded: a look into the black box of genomic prediction. *Genetics* 194:597–607. doi: 10.1534/genetics.113.152207
- Habier D, Tetens J, Seefried F-R, Lichtner P and Thaller G (2010) The impact of genetic relationship information on genomic breeding values in German Holstein cattle. *Genet Sel Evol* 42:5. doi: 10.1186/1297-9686-42-5
- Harris BL, Creagh FE, Winkelman AM and Johnson DL (2011) Experiences with the Illumina High Density Bovine BeadChip. *INTERBULL Bull.* 44:
- Harris BL, Johnson DL, Spelman RJ and Sattler JD (2008) Genomic selection in New Zealand and the implications for national genetic evaluation. *Proceedings of the 36th International Committee for Animal Recording Biennial Session, Niagara Falls. ICAR Technical Series. International Committee for Animal Recording (ICAR), Niagara Falls, Canada., pp 325–330*
- Hawken RJ, Zhang YD, Fortes MRS, Collis E, Barris WC, Corbet NJ, Williams PJ, Fordyce G, Holroyd RG, Walkley JRW et al. (2012) Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. *J Anim Sci* 90:1398–410. doi: 10.2527/jas.2011-4410
- Hayes B and Goddard M (2010) Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. *Genome / Natl Res Counc Canada = Génome / Cons Natl Rech Canada* 53:876–83. doi: 10.1139/G10-076
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain a J and Goddard ME (2009a) Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *J Dairy Sci* 92:433–443. doi: 10.3168/jds.2008-1646
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain A, Verbyla K and Goddard ME (2009b) Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. *Genet Sel Evol* 41:51. doi: 10.1186/1297-9686-41-51

- Henderson CR (1975) Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics* 31:423–47.
- Henderson CR (1984) *Application of Linear Models in Animal Breeding*.
- Henderson CR (1976) A Simple Method for Computing the Inverse of a Numerator Relationship Matrix Used in Prediction of Breeding Values. *Biometrics* 32:69–83. doi: 10.2307/2529339.
- Hickey JM, Kinghorn BP, Tier B, van der Werf JHJ and Cleveland MA (2012) A phasing and imputation method for pedigreed populations that results in a single-stage genomic evaluation. *Genet Sel Evol* 44:9. doi: 10.1186/1297-9686-44-9
- Hirschhorn JN and Daly MJ (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 6:95–108. doi: 10.1038/nrg1521
- Höglund JK, Sahana G, Guldbrandtsen B and Lund MS (2014) Validation of associations for female fertility traits in Nordic Holstein, Nordic Red and Jersey dairy cattle. *BMC Genet*. doi:10.1186/1471-2156-15-8
- Howard JT, Jiao S, Tiezzi F, Huang Y, Gray KA and Maltecca C (2015) Genome-wide association study on legendre random regression coefficients for the growth and feed intake trajectory on Duroc Boars. *BMC Genet* 16:59. doi: 10.1186/s12863-015-0218-8
- Howie BN, Donnelly P and Marchini J (2009) A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies. *PLoS Genet* 5:e1000529. doi: 10.1371/journal.pgen.1000529
- Huang L, Li Y, Singleton AB, Hardy JA, Abecasis G, Rosenberg NA and Scheet P (2009) Genotype-imputation accuracy across worldwide human populations. *Am J Hum Genet* 84:235–50. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.01.013
- Hyeong K, Lee Y, Kim Y, Nam KC, Jo C, Lee K, Lee J and Kim J (2014a) A Whole Genome Association Study on Meat Palatability in Hanwoo. *Asian-Australasian J Anim Sci* 27:1219–1227.
- Hyeong KE, Iqbal A and Kim JJ (2014b) A Genome Wide Association Study on Age at First Calving Using High Density Single Nucleotide Polymorphism Chips in Hanwoo (*Bos taurus coreanae*). *Asian-Australasian J Anim Sci* 27:1406–10. doi: 10.5713/ajas.2014.14273
- Illumina Inc. (2016) BovineSNP50 Genotyping BeadChip. In: [http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_bovine\\_snp50.pdf](http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf).
- Illumina Inc. (2010) BovineHD Genotyping BeadChip. Accessed Feb 22, 2015 05:0–3.
- Jiménez-Montero J a, González-Recio O and Alenda R (2013a) Comparison of methods for the implementation of genome-assisted evaluation of Spanish dairy cattle. *J Dairy Sci* 96:625–34. doi: 10.3168/jds.2012-5631
- Jiménez-Montero JA, Gianola D, Weigel K, Alenda R and González-Recio O (2013b) Assets of imputation to ultra-high density for productive and functional traits. *J Dairy Sci* 96:6047–58. doi: 10.3168/jds.2013-6793
- Khatib H (2015) *Molecular and Quantitative Animal Genetics*. John Wiley & Sons
- Kim Y, Ryu J, Woo J, Kim JB, Kim CY and Lee C (2011) Genome-wide association study reveals five nucleotide sequence variants for carcass traits in beef cattle. *Anim Genet* 42:361–5. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02156.x
- Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai J-Y, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST et al. (2005) Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 308:385–9. doi: 10.1126/science.1109557
- Knowles TG, Kestin SC, Haslam SM, Brown SN, Green LE, Butterworth A, Pope SJ, Pfeiffer D and Nicol CJ (2008) Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. *PLoS One* 3:e1545. doi: 10.1371/journal.pone.0001545

- Kong A, Masson G, Frigge ML, Gylfason A, Zusmanovich P, Thorleifsson G, Olason PI, Ingason A, Steinberg S, Rafnar T et al. (2008) Detection of sharing by descent, long-range phasing and haplotype imputation. *Nat Genet* 40:1068–75. doi: 10.1038/ng.216
- Lee SH, Choi BH, Lim D, Gondro C, Cho YM, Dang CG, Sharma A, Jang GW, Lee KT, Yoon D et al. (2013) Genome-wide association study identifies major loci for carcass weight on BTA14 in Hanwoo (Korean cattle). *PLoS One* 8:e74677. doi: 10.1371/journal.pone.0074677
- Lee S-H, Gondro C, van der Werf J, Kim N-K, Lim D-J, Park E-W, Oh S-J, Gibson JP and Thompson JM (2010) Use of a bovine genome array to identify new biological pathways for beef marbling in Hanwoo (Korean Cattle). *BMC Genomics* 11:623. doi: 10.1186/1471-2164-11-623
- Lee SH, van der Werf JHJ, Hayes BJ, Goddard ME and Visscher PM (2008) Predicting unobserved phenotypes for complex traits from whole-genome SNP data. *PLoS Genet* 4:e1000231. doi: 10.1371/journal.pgen.1000231
- Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Feitosa FLB, Aboujaoud C, Camargo GMF, Pereira ASC, Albuquerque LG, Ferrinho AM, Mueller LF et al. (2016) Genome-wide association between single nucleotide polymorphisms with beef fatty acid profile in Nellore cattle using the single step procedure. *BMC Genomics* 17:213. doi: 10.1186/s12864-016-2511-y
- Lindholm-Perry AK, Kuehn LA, Smith TPL, Ferrell CL, Jenkins TG, Freetly HC and Snelling WM (2012a) A region on BTA14 that includes the positional candidate genes LYPLA1, XKR4 and TMEM68 is associated with feed intake and growth phenotypes in cattle(1). *Anim Genet* 43:216–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02232.x
- Lindholm-Perry AK, Kuehn LA, Snelling WM, Smith TPL, Ferrell CL, Jenkins TG, King DA, Shackelford SD, Wheeler TL and Freetly HC (2012b) Genetic markers on BTA14 predictive for residual feed intake in beef steers and their effects on carcass and meat quality traits. *Anim Genet* 43:599–603. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02307.x
- Lipkin E, Mosig MO, Darvasi A, Ezra E, Shalom A, Friedmann A and Soller M (1998) Quantitative trait locus mapping in dairy cattle by means of selective milk DNA pooling using dinucleotide microsatellite markers: analysis of milk protein percentage. *Genetics* 149:1557–67.
- Littlejohn M, Grala T, Sanders K, Walker C, Waghorn G, Macdonald K, Coppieters W, Georges M, Spelman R, Hillerton E et al. (2011) Genetic variation in PLAG1 associates with early life body weight and peripubertal weight and growth in *Bos taurus*. *Anim Genet* 43:591–4. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02293.x
- Liu Y, Qin X, Song X-Z, Jiang H, Shen Y, Durbin KJ, Lien S, Kent M, Sodeland M, Ren Y et al. (2009) *Bos taurus* genome assembly. *BMC Genomics* 10:180. doi: 10.1186/1471-2164-10-180
- Lu D, Miller S, Sargolzaei M, Kelly M, Vander Voort G, Caldwell T, Wang Z and Moore S (2013a) Genome-wide association analyses for growth and feed efficiency traits in beef cattle. *J Anim Sci* 91:3612–3633. doi: 10.2527/jas2012-5716
- Lu D, Sargolzaei M, Kelly M, Vander Voort G, Wang Z, Mandell I, Moore S, Plastow G and Miller SP (2013b) Genome-wide association analyses for carcass quality in crossbred beef cattle. *BMC Genet* 14:80. doi: 10.1186/1471-2156-14-80
- Lynch M and Walsh B (1998) *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*,. *Am J Hum Genet* 68:548.
- Ma P, Brøndum RF, Zhang Q, Lund MS and Su G (2013) Comparison of different methods for imputing genome-wide marker genotypes in Swedish and Finnish Red Cattle. *J Dairy Sci* 96:4666–77. doi: 10.3168/jds.2012-6316
- MacLeod IM, Hayes BJ, Savin KW, Chamberlain a. J, McPartlan HC and Goddard ME (2010) Power of a genome scan to detect and locate quantitative trait loci in cattle using dense single nucleotide polymorphisms. *J Anim Breed Genet* 127:133–142. doi: 10.1111/j.1439-0388.2009.00831.x

- Mai MD, Sahana G, Christiansen FB and Guldbrandtsen B (2010) A genome-wide association study for milk production traits in Danish Jersey cattle using a 50K single nucleotide polymorphism chip. *J Anim Sci* 88:3522–8. doi: 10.2527/jas.2009-2713
- Marchini J, Howie B, Myers S, McVean G and Donnelly P (2007) A new multipoint method for genome-wide association studies by imputation of genotypes. *Nat Genet* 39:906–13. doi: 10.1038/ng2088
- Markey A, Rodriguez-Zas S, Faulkner DB and Beever JE (2012) A Genome Wide Association Analysis for Carcass Traits in Beef Cattle. *International Plant and Animal Genome Conference XX 2012*. pp 14–18
- Martínez C. (2010) Plan nacional de acción para la conservación, mejoramiento y utilización sostenible de los recursos genéticos animales de Colombia. Bogotá - Colombia
- Martínez R, Gallego J, Onofre G, Pérez J and Vasquez R (2011) Evaluación de la variabilidad y potencial genético de poblaciones de bovinos Criollos colombianos. *Anim Genet Resour Inf* 44:57–66. doi: 10.1017/S1014233900002868
- Martínez R, Gómez Y and Rocha JFM (2014) Genome-wide association study on growth traits in Colombian creole breeds and crossbreeds with Zebu cattle. *Genet Mol Res* 13:6420–6432. doi: 10.4238/2014.August.25.5
- Martínez R, Tobón J and Gallego J (2012a) Resistencia a enfermedades en la raza BON. Eficiencia productiva de la raza bon en el trópico colombiano. pp 88–109
- Martínez R, Toro R, Montoya F, Burbano M, Ariza F, Tobón J and Gallego J (2005) Caracterización del locus BoLA-DRB3 en ganado Criollo colombiano y asociación con resistencia a enfermedades. *Arch Zootec* 54:349–356.
- Martínez RA, Quiceno J, Gallego JL, Mateus H, Rodríguez O, Medina P and Ballesteros H (2012b) Desempeño de toretes de las razas Criollas Blanco Orejinegro y Romosinuano en prueba de crecimiento en pastoreo. *Rev Colomb Ciencias Pecu (Colombian J Anim Sci Vet Med* 25:36–45.
- Matukumalli LK, Lawley CT, Schnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, O'Connell J, Moore SS, Smith TPL, Sonstegard TS et al. (2009) Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS One* 4:e5350. doi: 10.1371/journal.pone.0005350
- McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, Goldstein DB, Little J, Ioannidis JPA and Hirschhorn JN (2008) Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat Rev Genet* 9:356–69. doi: 10.1038/nrg2344
- McClure M, Sonstegard T, Wiggans G and Van Tassell CP (2012) Imputation of microsatellite alleles from dense SNP genotypes for parental verification. *Front Genet* 3:140. doi: 10.3389/fgene.2012.00140
- McClure MC, Morsci NS, Schnabel RD, Kim JW, Yao P, Rolf MM, McKay SD, Gregg SJ, Chapple RH, Northcutt SL et al. (2010) A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, post-natal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. *Anim Genet* 41:597–607. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02063.x
- Meredith BK, Kearney FJ, Finlay EK, Bradley DG, Fahey AG, Berry DP and Lynn DJ (2012) Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland. *BMC Genet* 13:21. doi: 10.1186/1471-2156-13-21
- Meuwissen T and Goddard M (2010) Accurate prediction of genetic values for complex traits by whole-genome resequencing. *Genetics* 185:623–31. doi: 10.1534/genetics.110.116590
- Meuwissen T, Hayes B and Goddard M (2013) Accelerating improvement of livestock with genomic selection. *Annu Rev Anim Biosci* 1:221–37. doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103705
- Meuwissen THE (2009) Accuracy of breeding values of “unrelated” individuals predicted by dense SNP genotyping. *Genet Sel Evol* 41:35. doi: 10.1186/1297-9686-41-35

- Meuwissen THE, Hayes BJ and Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819–1829. doi: 11290733
- Miller S (2010) Genetic improvement of beef cattle through opportunities in genomics. *Rev Bras Zootec* 39:247–255. doi: 10.1590/S1516-35982010001300027
- Minozzi G, Nicolazzi EL, Stella A, Biffani S, Negrini R, Lazzari B, Ajmone-Marsan P and Williams JL (2013) Genome wide analysis of fertility and production traits in Italian Holstein cattle. *PLoS One* 8:e80219. doi: 10.1371/journal.pone.0080219
- Misztal I, Legarra A and Aguilar I (2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. *J Dairy Sci* 92:4648–55. doi: 10.3168/jds.2009-2064
- Nauta WJ, Baars T, Groen AF, Veerkamp RF and Roep D (2001) Animal breeding in organic farming. Discussion paper. *Louis Bolk Inst LV* 45:1–81.
- Nauta WWJ (2009) Selective Breeding in Organic Dairy Production. Wageningen University
- Neogen Corporation (2013) GeneSeek Genomic Profiler for dairy cattle. [http://www.neogen.com/Genomics/pdf/Slicks/GGP\\_HD\\_Dairy.pdf](http://www.neogen.com/Genomics/pdf/Slicks/GGP_HD_Dairy.pdf). Accessed 17 Mar 2016
- Nicolazzi EL, Biffani S, Biscarini F, Orozco Ter Wengel P, Caprera A, Nazzicari N and Stella A (2015) Software solutions for the livestock genomics SNP array revolution. *Anim Genet* 46:343–353. doi: 10.1111/age.12295
- Nishimura S, Watanabe T, Mizoshita K, Tatsuda K, Fujita T, Watanabe N, Sugimoto Y and Takasuga A (2012) Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. *BMC Genet* 13:40. doi: 10.1186/1471-2156-13-40
- Nothnagel M, Ellinghaus D, Schreiber S, Krawczak M and Franke A (2009) A comprehensive evaluation of SNP genotype imputation. *Hum Genet* 125:163–71. doi: 10.1007/s00439-008-0606-5
- Panigrahi M and Parida S (2012) Genomic selection - Revolutionary breeding practice in Domestic animals. *Vet World* 5:433–436. doi: 10.5455/vetworld.2012.433-436
- Park T and Casella G (2008) The Bayesian Lasso. *J Am Stat Assoc* 103:681–686. doi: 10.1198/016214508000000337
- Patterson N, Price AL and Reich D (2006) Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet* 2:e190. doi: 10.1371/journal.pgen.0020190
- Pausch H, Flisikowski K, Jung S, Emmerling R, Edel C, Götz K-U and Fries R (2011) Genome-wide association study identifies two major loci affecting calving ease and growth-related traits in cattle. *Genetics* 187:289–97. doi: 10.1534/genetics.110.124057
- Peters SO, Kizilkaya K, Garrick DJ, Fernando RL, Reecy JM, Weaver RL, Silver G a. and Thomas MG (2012) Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in brangus heifers. *J Anim Sci* 90:3398–3409. doi: 10.2527/jas.2012-4507
- Piccoli ML, Braccini J, Cardoso FF, Sargolzaei M, Larmer SG and Schenkel FS (2014) Accuracy of genome-wide imputation in Braford and Hereford beef cattle. *BMC Genet* 15:1275. doi: 10.1186/s12863-014-0157-9
- Pryce JE, Bolormaa S, Chamberlain AJ, Bowman PJ, Savin K, Goddard ME and Hayes BJ (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. doi: 10.3168/jds.2009-2893
- Qwabe SO, Van Marle-Koster E, Maiwashe A and Muchadeyi FC (2013) Evaluation of the BovineSNP50 genotyping array in four South African cattle populations. *South African J Anim Sci*. doi: 10.4314/sajas.v43i.7

- Rolf MM, Taylor JF, Schnabel RD, McKay SD, McClure MC, Northcutt SL, Kerley MS and Weaber RL (2012) Genome-wide association analysis for feed efficiency in Angus cattle. *Anim Genet* 43:367–74. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02273.x
- Rolf MM, Taylor JF, Schnabel RD, McKay SD, McClure MC, Northcutt SL, Kerley MS and Weaber RL (2010) Impact of reduced marker set estimation of genomic relationship matrices on genomic selection for feed efficiency in Angus cattle. *BMC Genet* 11:24. doi: 10.1186/1471-2156-11-24
- Saatchi M, Beever JE, Decker JE, Faulkner DB, Freetly HC, Hansen SL, Yampara-Iquise H, Johnson KA, Kachman SD, Kerley MS et al. (2014) QTLs associated with dry matter intake, metabolic mid-test weight, growth and feed efficiency have little overlap across 4 beef cattle studies. *BMC Genomics* 15:1004. doi: 10.1186/1471-2164-15-1004
- Sahana G, Guldbrandtsen B, Bendixen C and Lund MS (2010) Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Anim Genet* 41:579–88. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02064.x
- Sahana G, Guldbrandtsen B and Lund MS (2011) Genome-wide association study for calving traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *J Dairy Sci* 94:479–86. doi: 10.3168/jds.2010-3381
- Sahana G, Guldbrandtsen B, Thomsen B, Holm L-E, Panitz F, Brøndum RF, Bendixen C and Lund MS (2014) Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle1. *J Dairy Sci* 97:7258–7275. doi: 10.3168/jds.2014-8141
- Sahana G, Guldbrandtsen B, Thomsen B and Lund MS (2013) Confirmation and fine-mapping of clinical mastitis and somatic cell score QTL in Nordic Holstein cattle. *Anim Genet* 44:620–6. doi: 10.1111/age.12053
- Sargolzae M, Schenkel F, Chesnais J and Al. E (2010) Impact of amount of dam genotypic information on family-based imputation accuracy. *Rep Present Dairy Cattle Breed Genet Comm Meet* 1–4.
- Sargolzaei M, Chesnais JP and Schenkel FS (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. *BMC Genomics* 15:478. doi: 10.1186/1471-2164-15-478
- Schaeffer LR (2006) Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *J Anim Breed Genet* 123:218–23. doi: 10.1111/j.1439-0388.2006.00595.x
- Scharf B, Carroll JA, Riley DG, Chase CC, Coleman SW, Keisler DH, Weaber RL and Spiers DE (2010) Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant (Romosinuano) and heat-susceptible (Angus) *Bos taurus* cattle during controlled heat challenge. *J Anim Sci* 88:2321–36. doi: 10.2527/jas.2009-2551
- Scheet P and Stephens M (2006) A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase. *Am J Hum Genet* 78:629–44. doi: 10.1086/502802
- Schreiweis MA, Hester PY and Moody DE (2005) Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F2 resource population of chickens. *Genet Sel Evol* 37:677–98. doi: 10.1051/gse:2005023
- Segelke D, Chen J, Liu Z, Reinhardt F, Thaller G and Reents R (2012) Reliability of genomic prediction for German Holsteins using imputed genotypes from low-density chips. *J Dairy Sci* 95:5403–11. doi: 10.3168/jds.2012-5466
- Seidel GE (2010) Brief introduction to whole-genome selection in cattle using single nucleotide polymorphisms. *Reprod Fertil Dev* 22:138–44. doi: 10.1071/RD09220
- Servin B and Stephens M (2007) Imputation-based analysis of association studies: candidate regions and quantitative traits. *PLoS Genet* 3:e114. doi: 10.1371/journal.pgen.0030114
- Sharma A, Lee JS, Dang CG, Sudrajad P, Kim HC, Yeon SH, Kang HS and Lee S-H (2015) Stories and Challenges of Genome Wide Association Studies in Livestock - A Review. *Asian-Australasian J Anim Sci* 28:1371–9. doi: 10.5713/ajas.14.0715

Sherman EL, Nkrumah JD, Li C, Bartusiak R, Murdoch B and Moore SS (2009) Fine mapping quantitative trait loci for feed intake and feed efficiency in beef cattle. *J Anim Sci* 87:37–45. doi: 10.2527/jas.2008-0876

Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn L a., McDanel T, Smith TPL, Sonstegard TS, Thallman RM and Bennett GL (2010) Genome-wide association study of growth in crossbred beef cattle. *J Anim Sci* 88:837–848. doi: 10.2527/jas.2009-2257

Soller M, Weigend S, Romanov MN, Dekkers JCM and Lamont SJ (2006) Strategies to Assess Structural Variation in the Chicken Genome and its Associations with Biodiversity and Biological Performance. *Poult Sci* 85:2061–2078. doi: 10.1093/ps/85.12.2061

Spek D Van Der and Van J (2015) Genome-wide association study for claw disorders and trimming status in dairy cattle. *J Dairy Sci* 98:1286–1295.

Stephens M and Scheet P (2005) Accounting for decay of linkage disequilibrium in haplotype inference and missing-data imputation. *Am J Hum Genet* 76:449–62. doi: 10.1086/428594

Streit M, Reinhardt F, Thaller G and Bennewitz J (2013) Genome-wide association analysis to identify genotype × environment interaction for milk protein yield and level of somatic cell score as environmental descriptors in German Holsteins. *J Dairy Sci* 96:7318–24. doi: 10.3168/jds.2013-7133

Sun C, Wu X-L, Weigel KA, Rosa GJM, Bauck S, Woodward BW, Schnabel RD, Taylor JF and Gianola D (2012) An ensemble-based approach to imputation of moderate-density genotypes for genomic selection with application to Angus cattle. *Genet Res (Camb)* 94:133–50. doi: 10.1017/S001667231200033X

The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, Elsik CG, Tellam RL, Worley KC, Gibbs R a, Muzny DM, Weinstock GM, Adelson DL, Eichler EE, Elnitski L et al. (2009) The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. *Science* 324:522–528. doi: 10.1126/science.1169588

Thompson-Crispi KA, Sargolzaei M, Ventura R, Abo-Ismael M, Miglior F, Schenkel F and Mallard BA (2014) A genome-wide association study of immune response traits in Canadian Holstein cattle. *BMC Genomics* 15:559. doi: 10.1186/1471-2164-15-559

Tiezzi F, Parker-Gaddis KL, Cole JB, Clay JS and Maltecca C (2015) A genome-wide association study for clinical mastitis in first parity US Holstein cows using single-step approach and genomic matrix re-weighting procedure. *PLoS One* 10:e0114919. doi: 10.1371/journal.pone.0114919

Utsunomiya YT, Carmo AS do, Carneiro R, Neves HH, Matos MC, Zavarez LB, O'Brien AMP, Sölkner J, McEwan JC, Cole JB et al. (2013) Genome-wide association study for birth weight in Nellore cattle points to previously described orthologous genes affecting human and bovine height. *BMC Genet* 14:52. doi: 10.1186/1471-2156-14-52

Van Der Steen HAM, Prall GFW and Plastow GS (2005) Application of genomics to the pork industry. *J Anim Sci* 83:E1–E8. doi: /2005.8313\_supplE1x

Van Der Werf JHJ, Kinghorn BP and Banks RG (2010) Design and role of an information nucleus in sheep breeding programs. *Anim Prod Sci* 50:998–1003.

Van Eenennaam AL, Weigel KA, Young AE, Cleveland MA and Dekkers JCM (2014) Applied animal genomics: results from the field. *Annu Rev Anim Biosci* 2:105–39. doi: 10.1146/annurev-animal-022513-114119

van Marle-Köster E, Visser C and Berry DP (2013) A review of genomic selection - implications for the south african beef and dairy cattle industries. *South African J Anim Sci* 43:1–17. doi: 10.4314/sajas.v43i1.1

Van Tassell CP, Smith TPL, Matukumalli LK, Taylor JF, Schnabel RD, Lawley CT, Haudenschild CD, Moore SS, Warren WC and Sonstegard TS (2008) SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. *Nat Methods* 5:247–52. doi: 10.1038/nmeth.1185

- VanRaden PM, Null DJ, Sargolzaei M, Wiggans GR, Tooker ME, Cole JB, Sonstegard TS, Connor EE, Winters M, van Kaam JBCHM et al. (2013) Genomic imputation and evaluation using high-density Holstein genotypes. *J Dairy Sci* 96:668–78. doi: 10.3168/jds.2012-5702
- VanRaden PM, O'Connell JR, Wiggans GR and Weigel KA (2011) Genomic evaluations with many more genotypes. *Genet Sel Evol* 43:10. doi: 10.1186/1297-9686-43-10
- VanRaden PM, Van Tassell CP, Wiggans GR, Sonstegard TS, Schnabel RD, Taylor JF and Schenkel FS (2009) Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *J Dairy Sci* 92:16–24. doi: 10.3168/jds.2008-1514
- Vásquez R, Martínez R, Rodríguez O, Ballesteros H, Ossa G, Abuabara Y, Pérez J, Neira J, Onofre G, Polanco N et al. (2007) Manual de conservacion, multiplicacion y mejoramiento de las razas bovinas Criollas colombianas, 1ra ed. Produmedios, Mosquera (Cundinamarca)
- Visscher PM, Macgregor S, Benyamin B, Zhu G, Gordon S, Medland S, Hill WG, Hottenga J-J, Willemsen G, Boomsma DI et al. (2007) Genome partitioning of genetic variation for height from 11,214 sibling pairs. *Am J Hum Genet* 81:1104–10. doi: 10.1086/522934
- Voorman A, Lumley T, McKnight B and Rice K (2011) Behavior of QQ-plots and genomic control in studies of gene-environment interaction. *PLoS One* 6:e19416. doi: 10.1371/journal.pone.0019416
- Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A, Fernando RL, Vitezica Z, Okimoto R, Wing T, Hawken R and Muir WM (2014) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. *Front Genet* 5:1–10. doi: 10.3389/fgene.2014.00134
- Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A and Muir WM (2012) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. *Genet Res (Camb)* 94:73–83. doi: 10.1017/S0016672312000274
- Wiggans GR, Cooper TA, Van Tassell CP, Sonstegard TS and Simpson EB (2013) Technical note: Characteristics and use of the Illumina BovineLD and GeneSeek Genomic Profiler low-density bead chips for genomic evaluation. *J Dairy Sci* 96:1258–63. doi: 10.3168/jds.2012-6192
- Wiggans GR, Cooper TA, Vanraden PM, Olson KM and Tooker ME (2012) Use of the Illumina Bovine3K BeadChip in dairy genomic evaluation. *J Dairy Sci* 95:1552–8. doi: 10.3168/jds.2011-4985
- Wiggans GR, Sonstegard TS, VanRaden PM, Matukumalli LK, Schnabel RD, Taylor JF, Schenkel FS and Van Tassell CP (2009) Selection of single-nucleotide polymorphisms and quality of genotypes used in genomic evaluation of dairy cattle in the United States and Canada. *J Dairy Sci* 92:3431–6. doi: 10.3168/jds.2008-1758
- Wiggans GR, Vanraden PM and Cooper TA (2011) The genomic evaluation system in the United States: past, present, future. *J Dairy Sci* 94:3202–11. doi: 10.3168/jds.2010-3866
- Winkelman a. M, Johnson DL and Harris BL (2015) Application of genomic evaluation to dairy cattle in New Zealand. *J Dairy Sci* 98:659–675. doi: 10.3168/jds.2014-8560
- Wu Y, Fan H, Wang Y, Zhang L, Gao X, Chen Y, Li J, Ren H and Gao H (2014) Genome-Wide Association Studies Using Haplotypes and Individual SNPs in Simmental Cattle. *PLoS One* 9:e109330. doi: 10.1371/journal.pone.0109330
- 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. doi: 10.1186/2049-1891-3-26
- Zhang Z, Zhang Q and Ding XD (2011) Advances in genomic selection in domestic animals. *Chinese Sci Bull* 56:2655–2663. doi: 10.1007/s11434-011-4632-7
- Zimin A V, Delcher AL, Florea L, Kelley DR, Schatz MC, Puiu D, Hanrahan F, Pertea G, Van Tassell CP, Sonstegard TS et al. (2009) A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biol* 10:R42. doi: 10.1186/gb-2009-10-4-r42

## **2. Capítulo 2: Niveles de desequilibrio de ligamiento y distribución de frecuencias alélicas en las razas de ganado Blanco Orejinegro y Romosinuano utilizando un chip de SNP de media densidad.**

### **2.1 Resumen**

El grado de desequilibrio de ligamiento (LD - *Linkage Disequilibrium*) entre los marcadores moleculares afecta la confiabilidad de los estudios de asociación genómica (GWAS) y la aplicación de la selección genómica (GS). La disponibilidad de plataformas de genotipado a gran escala que permiten determinar el genotipo de miles de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) distribuidos a lo largo del genoma de los animales, hace posible evaluar el LD con una muy buena resolución. El objetivo de este estudio fue evaluar el grado de LD y la distribución de frecuencias alélicas en dos razas de ganado Criollo Colombiano (Blanco Orejinegro y Romosinuano) a través de un panel de SNP de media densidad (50K). El análisis de LD indica que en este tipo de razas Criollas la caída del LD es menor al reportado en otras razas taurinas, alcanzado valores óptimos de LD ( $r^2 \geq 0,3$ ) hasta una distancia de 70Kb en la raza BON y de 100Kb en la raza Romo, distancias que son superiores a los valores reportados en otras razas Taurinas ( $\leq 40Kb$ ), lo cual posiblemente está asociado a la condición de población bajo conservación a la que pertenecen los animales evaluados, que se relaciona con un reducido tamaño efectivo de población. En promedio el valor de la frecuencia del alelo menor (MAF - *Minor Allele Frequency*) para las dos razas fue de  $0,27 \pm 0,14$ , con una mayor proporción de SNP que presentan valores de MAF altos ( $\geq 0,3$ ), esto coincide con las frecuencias reportadas en otras razas taurinas. Los niveles de LD y la distribución de frecuencias encontrados en este estudio sugieren que al utilizar el Chip BovineSNP50K\_v2 como plataforma de genotipado, es posible tener una adecuada cobertura a lo largo del genoma de este tipo de razas Criollas, y de esta forma lograr

capturar el efecto de la mayoría de QTL relacionados con rasgos de interés productivo, esto asegura una adecuada capacidad de predicción en los análisis genómicos (GWAS, GS).

**Palabras clave:** Razas Criollas, BovineSNP50, Desequilibrio de Ligamiento, minor allele frequency.

## 2.2 Introducción

Los alelos de genes que están cerca físicamente en un cromosoma se heredan de forma interconectada, por propiedades de herencia estos alelos no se pasan a la progenie de forma independiente, sino como bloques de alelos o haplotipos aportados a partir de cada uno de los padres (Ardlie et al. 2002; Pérez O'Brien et al. 2014a). Esta condición crea un nivel de correlación entre alelos de diferentes genes que se conoce como desequilibrio de ligamiento (LD - *Linkage Disequilibrium*). Este concepto se puede extender a cualquier nucleótido en el genoma, así como a cualquier tipo de marcador molecular, tales como los polimorfismos de nucleótido simple (SNP), por lo cual, el concepto de LD entre marcadores moleculares refleja la correlación que existe entre los genotipos de dos o más loci (marcadores) o el grado de asociación no aleatoria entre sus alelos (Porto-Neto et al. 2014). Esta correlación se deriva principalmente de la cercanía física, pero también puede estar influenciada por varios procesos evolutivos y eventos históricos ocurridos en la población (Reich et al. 2001; Ardlie et al. 2002; Khatkar et al. 2008).

El conocimiento de la magnitud y el patrón de caída del LD a lo largo del genoma bovino tiene implicaciones importantes sobre un gran número de metodologías basadas en datos genómicos, que actualmente se utilizan en genética y mejoramiento animal, como los estudios de asociación genómica (GWAS) (Ardlie et al. 2002), la predicción y selección genómica (Meuwissen et al. 2001; The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium et al. 2009), la imputación genómica de marcadores (Piccoli et al. 2014), mapeo de loci de rasgos cuantitativos (QTL), pruebas de parentesco, pruebas de enfermedades basadas en marcadores genómicos, entre otras, la mayoría de estas herramientas son aplicadas de manera rutinaria en los programas de mejoramiento genético animal, y el éxito de su implementación es inherentemente dependiente de los niveles de LD presentes entre los marcadores utilizados y entre los marcadores y sus regiones genómicas circundantes (Pérez O'Brien et al. 2014a).

El LD es la base que sustenta el mapeo de genes y los estudios de asociación genómica (GWAS), que son herramientas importantes para la exploración de la base genética que regula la expresión de los rasgos de importancia económica en el ganado bovino (McKay et al. 2007; Espigolan et al. 2013), el LD también es una herramienta útil para explorar el grado de diversidad entre razas, inferir la distribución de crossing over (recombinación), e identificar regiones del genoma que han sido objeto de diferentes presiones de selección (McKay et al. 2007; Bohmanova et al. 2010; Porto-Neto et al. 2014). Los mapas de LD de alta resolución también han proporcionado información útil para el diseño de paneles de SNPs de alta densidad que son utilizados en selección genómica (GS) (Matukumalli et al. 2009; Wiggans et al. 2009; Bohmanova et al. 2010).

El nivel de LD presente en las diferentes poblaciones y razas de ganado afecta de manera directa el resultado de los GWAS, así como la exactitud de las estimaciones de los valores genómicos de cría, dado que este tipo de metodologías exploran el LD presente entre los marcadores, bajo el supuesto de que los efectos de los segmentos cromosómicos serán los mismos en toda la población, asumiendo que los marcadores están en LD con los genes que son responsables de la expresión de la característica de interés (*quantitative trait loci*, QTL) (Meuwissen et al. 2001). Por lo cual, la densidad de marcadores a utilizar debe ser lo suficientemente alta para garantizar que todos los QTL de interés están en LD con por lo menos uno o más marcadores (Meuwissen et al. 2001; Meuwissen 2009; Espigolan et al. 2013). Estudios previos que utilizaron marcadores tipo SNP para describir los patrones de LD a nivel de todo el genoma en el ganado bovino (McKay et al. 2007; Khatkar et al. 2008; Gibbs et al. 2009; Bohmanova et al. 2010; Beghain et al. 2013; Hozé et al. 2013), han sugerido que se requieren de 30,000 a 300,000 SNPs para llevar a cabo un estudio de asociación genómica (GWAS), esto dependiendo del rasgo evaluado y de la potencia estadística deseada (McKay et al. 2007; Khatkar et al. 2008). Actualmente, la disponibilidad de plataformas de SNP de alta densidad que permiten evaluar de manera simultánea más de 0,7 millones de loci, ofrecen la densidad de marcadores requerida.

Una de las medidas más utilizadas para evaluar el LD entre marcadores bialélicos es el cuadrado del coeficiente de correlación genética  $r^2$  (Hill and Robertson 1968), este parámetro representa la correlación entre dos loci, y puede variar entre 0 y 1, valores cercanos a 0 indican la ocurrencia de recombinación entre dos loci y valores cercanos a 1 indican ausencia de recombinación entre los dos loci (Bohmanova et al. 2010), el  $r^2 = 1$  cuando sólo dos haplotipos están presentes, lo cual es usualmente una consecuencia de

cuellos de botella en la población o de la deriva genética (Reich et al. 2001; Bush et al. 2009). El  $r^2$  es el parámetro más utilizado para evaluar el LD en los estudios de asociación, dado que existe una relación inversa simple entre  $r^2$  y el tamaño de la muestra que se requiere para detectar la asociación entre un QTL específico y un SNP (Pritchard and Przeworski 2001; Wall and Pritchard 2003).

Existe variación en el nivel de LD encontrado entre diferentes poblaciones y razas de ganado (Gautier et al. 2007; Andreescu et al. 2007; Meadows et al. 2008; Amaral et al. 2008; de Roos et al. 2008; Uimari and Tapio 2011; Pérez O'Brien et al. 2014a), esto ocurre porque las estimaciones de LD depende en gran medida de varios factores, tales como: la historia y la estructura de la población estudiada (las fuerzas evolutivas que afectan a la población) (Reich et al. 2001; Teo et al. 2009), tamaño de la muestra, tipo de marcadores usados (microsatélites o SNPs), densidad de marcadores y la distribución de sus frecuencias alélicas (Uimari et al. 2005; Sargolzaei et al. 2008), también el tipo de método utilizado para la reconstrucción de haplotipos, el rigor del proceso de control de calidad del genotipado de SNP (umbral de las frecuencias de alelos menos frecuentes y equilibrio de Hardy-Weinberg), el uso de haplotipos maternos o ambos haplotipos maternos y paternos, entre otros factores (Bohmanova et al. 2010). Las diferencias en el LD entre poblaciones de una misma especie pueden alterar la repetibilidad de los resultados encontrados en GWAS, afectar la aplicabilidad de pruebas genómicas para enfermedades y la estimación de valores genómicos, en poblaciones diferentes a las utilizadas para el análisis inicial (Pérez O'Brien et al. 2014a).

A pesar de que la cuantificación de la extensión del LD en el genoma de la raza a evaluar, es un primer paso necesario para determinar si los marcadores (SNPs) incluidos en el chip de genotipado utilizado son suficientes para obtener buenos resultados en el mapeo de QTL por GWAS (Goldstein 2001; Carlson et al. 2004; McKay et al. 2007) y para implementar estrategias de selección genómica (Meuwissen et al. 2001; Khatkar et al. 2008; Sargolzaei et al. 2008; Qanbari et al. 2010), su importancia es a menudo descuidada, generando sesgos en los análisis realizados. También es importante considerar que las plataformas de genotipado disponibles comercialmente han sido desarrolladas a partir de un grupo reducido de razas taurinas especializadas (Illumina Inc. 2012), por lo cual, cuando son utilizadas en un grupo racial diferente, es pertinente evaluar la distribución de frecuencias alélicas de los marcadores utilizados. En el presente estudio se evaluó el nivel de LD y la distribución de frecuencias para el alelo menos común en dos razas de ganado Criollo

Colombiano (Blanco Orejinegro y Romosinuano) a través de un panel de SNP de media densidad (BovineSNP50K\_v2 (Illumina Inc. 2012)), como base para el desarrollo de GWAS y la implementación de estrategias de GS en este tipo de razas.

## 2.3 Materiales y métodos

**Animales y Genotipos:** un total de 866 animales fueron usados en este estudio, incluyendo 500 individuos Blanco Orejinegro (BON) y 366 Romosinuano (ROMO), los cuales fueron genotipados para 54,609 SNP usando el BeadChip BovineSNP50K\_v2 (Illumina Inc. 2016), para lo cual las muestras de ADN extraídas a partir de sangre y/o semen, se genotiparon en el Laboratorio de Genómica del C.I. Corpoica Tibaitatá siguiendo el protocolo Infinium HD Assay (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), al final del proceso para obtener los genotipos cada chip fue escaneado en un equipo HiScan® y los datos generados se analizaron con el software GenomeStudio (Illumina Inc.). La aprobación para la toma de muestras de sangre de los animales utilizados en este estudio fue otorgada por el comité de bioética de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

**Control de calidad de genotipos:** se aplicó procedimientos de control de calidad (QC) a los datos de genotipos de SNP de manera independiente para cada grupo racial, de acuerdo con las reglas descritas por Wiggans et al. (2010) y con el uso del software PLINK v1.9 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>) (Purcell et al. 2007), fueron excluidos SNPs, si el Call Rate o tasa de llamado era menor al 90%, si presentaban una desviación extrema del equilibrio Hardy-Weinberg ( $P < 0,01$ ) (por ejemplo, SNP en cromosomas autosómicos que presenten ambos genotipos homocigotos, pero sin heterocigotos), lo mismo para SNP con posición genómica desconocida, o si estaban ubicados en cromosomas sexuales, también si eran monomórficos o si la frecuencia del alelo menos común (MAF) estaba por debajo de 0.03. Igualmente, se eliminó animales que presentaban un Call Rate menor al 90% o con errores de pedigrí.

**Estimación de la frecuencia del alelo menos común:** después de realizar el QC, se usó PLINK para estimar la frecuencia del alelo menos común (abreviada MAF, en inglés, *Minor Allele Frequency*) en todos los marcadores autosómicos incluidos en los dos conjuntos de datos. Para evaluar la distribución de las frecuencias alélicas se establecieron 5 categorías,

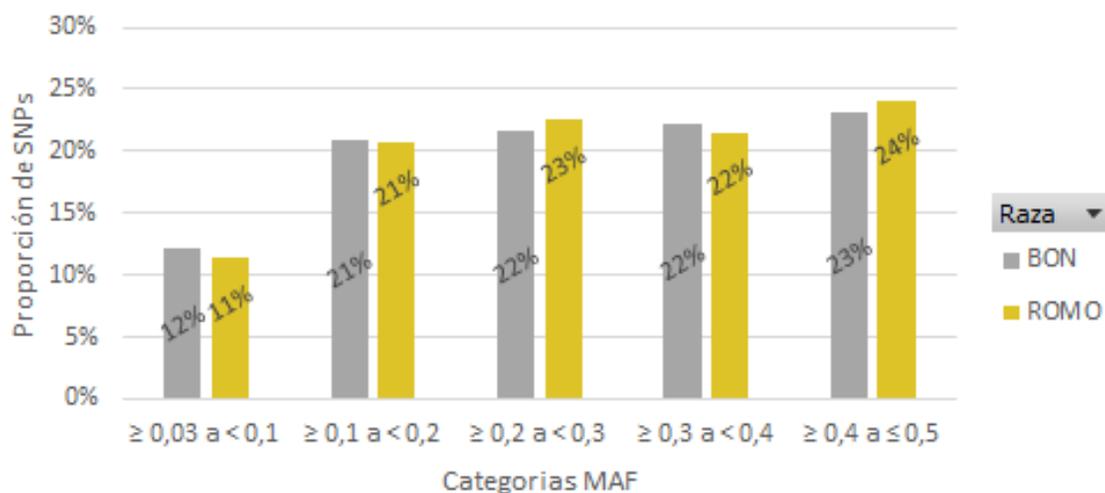
que representan la proporción de SNPs con valores de MAF que se ubican dentro de los siguientes rangos:  $\geq 0,03$  a  $< 0,1$  ,  $\geq 0,1$  a  $< 0,2$  ,  $\geq 0,2$  a  $< 0,3$  ,  $\geq 0,3$  a  $< 0,4$  y  $\geq 0,4$  a  $\leq 0,5$ . Para la comparación entre las dos razas los resultados fueron graficados utilizando R.

**Análisis de disequilibrio de ligamiento (LD):** el cuadrado del coeficiente de correlación entre dos loci ( $r^2$ ) se utilizó como la medida de LD en este estudio, indicando la capacidad de los alelos presentes en un marcador para predecir los alelos de un segundo marcador ubicado a determinada distancia (en pares de bases) (Ke et al. 2004). El valor de  $r^2$  basado en las frecuencias de los genotipos de cada SNP, codificados como 0, 1, o 2 copias del alélelo B, fue calculado usando PLINK (Purcell et al. 2007) para todas las posibles combinaciones de pares de SNP separados por una distancia máxima de 1 Megabase (Mb) dentro de cada cromosoma (BTA). Usando los valores de  $r^2 \geq 0,1$ , se analizó la caída del LD para dos distancias máximas entre diferentes pares de SNP, definidas como  $\leq 200\text{Kb}$  y  $\leq 1\text{Mb}$ , para evidenciar la tendencia en la caída del LD se utilizó los valores promedio de  $r^2$  para todas las posibles comparaciones de SNP incluidos dentro de ventanas de diferente tamaño, 1 Kb , 10 Kb y 100 Kb, esto dependiendo de la distancia entre marcadores. Para cada raza la tendencia en la caída del LD se graficó de manera general para todo el genoma y por BTA.

## 2.4 Resultados

Luego de realizar el proceso de control de calidad, se eliminaron marcadores monomórficos y también aquellos que presentaban una frecuencia del alelo menor (MAF) por debajo del 3%, logrando obtener 40,555 SNP polimórficos efectivos ubicados en cromosomas autosómicos de la raza BON (74,26%), y 40,421 SNP polimórficos efectivos ubicados en cromosomas autosómicos de la raza ROMO (74,02%). En la Figura 2-1 se presenta la distribución de MAF para las dos razas evaluadas, se observa una tendencia general en las dos razas a presentar una mayor proporción de SNPs con valores altos de MAF, con alrededor del 45% de los SNPs ubicados en las dos últimas categorías, con valores de MAF iguales o superiores a 0,3, y un menor porcentaje de SNP en las primeras categorías, con un 32 a 33% de SNP que presentan valores de MAF menores a 0,2 (Tabla 2-1).

**Figura 2-1:** Distribución de Minor Allele Frequencies (MAF) para cada raza<sup>1</sup>.



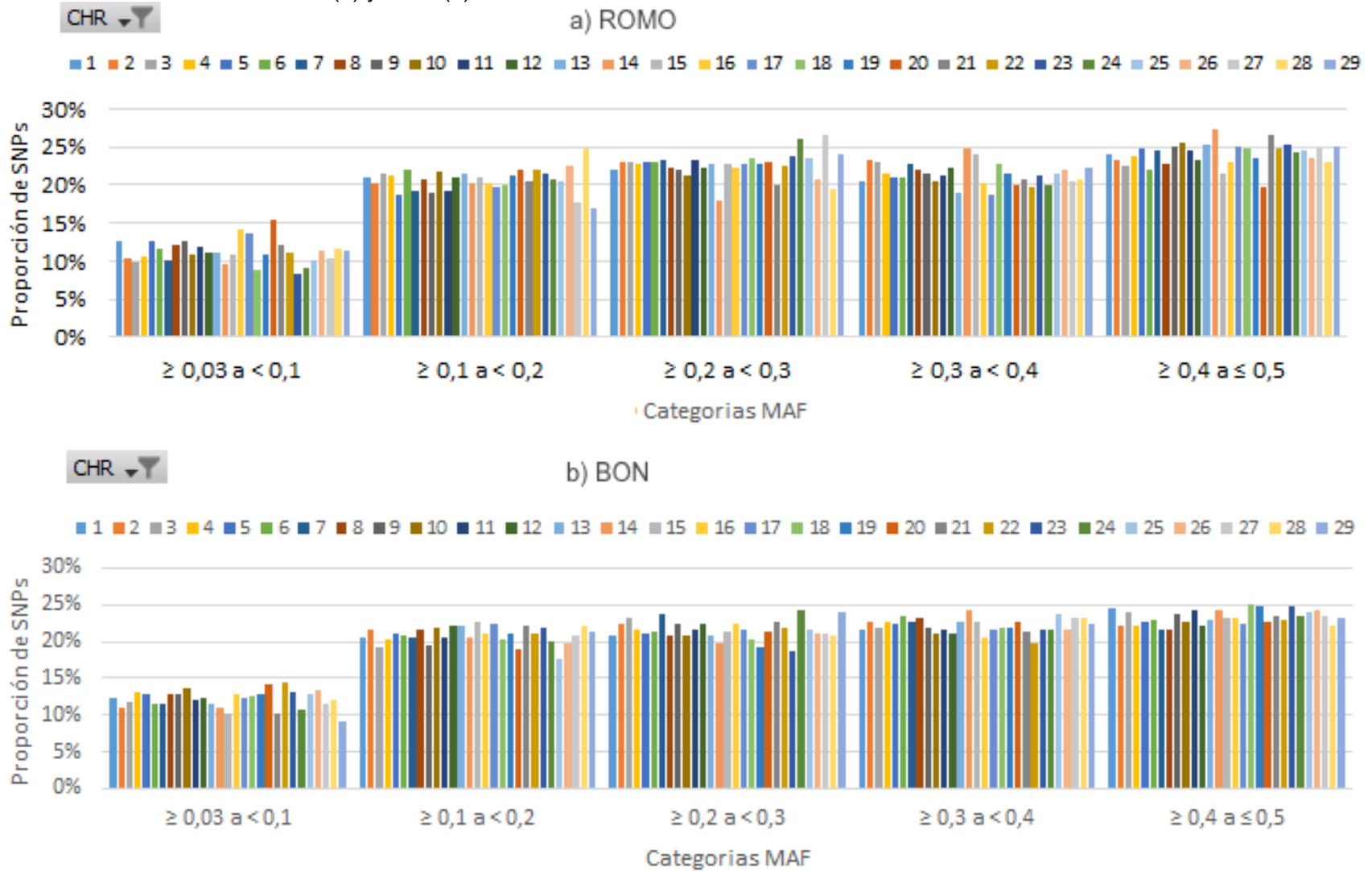
<sup>1</sup>Proporción de SNPs (eje Y) incluidos en el BovineSNP50K\_v2 (Illumina Inc. 2016), que se encuentran dentro de cada categoría de MAF (eje X) para cada raza.

**Tabla 2-1:** Distribución de SNP por categorías de MAF y promedio de MAF para las razas BON y ROMO.

Categorías MAF	BON	ROMO
≥ 0,03 a < 0,1	12%	11%
≥ 0,1 a < 0,2	21%	21%
≥ 0,2 a < 0,3	22%	23%
≥ 0,3 a < 0,4	22%	22%
≥ 0,4 a ≤ 0,5	23%	24%
Promedio de MAF	0,27 ± 0,14	0,27 - 0,14

Al realizar el análisis por BTA se evidencio que de manera general para las dos razas, todos los cromosomas siguen la misma tendencia con una mayor proporción de SNPs ubicados en las ultimas categorías ( $\geq 0,3$ ) (Figura 2-2 a y b), en el caso de la raza BON los cromosomas con una mayor proporción de SNPs en la última categoría ( $MAF \geq 0,4$ ), son el BTA18 (25,0%), BTA19 (24,8%) y BTA23 (24,8%), por su parte en la raza ROMO los cromosomas con una mayor cantidad de SNPs con valores de MAF iguales o mayores a 0,4, fueron el BTA14 (27,2%), BTA21 (26,5%) y BTA10 (25,6%), en cuanto a la primera categoría que incluye SNPs con valores  $\geq 0,03$  y  $< 0,1$ , en la raza BON los cromosomas con una mayor proporción de SNPs en esta categoría son el BTA20 (15,4%), BTA16 (14,2%) y BTA17 (13,7%), por su parte en la raza ROMO los cromosomas con mayor cantidad de SNPs con valores de MAF menores a 0,1 son el BTA22 (14,4%) y BTA20 (14,2%).

**Figura 2-2:** Proporción de SNPs para varias categorías de minor allele frecuencias (MAF) calculadas para cada cromosoma autosómico en las razas ROMO (a) y BON (b).

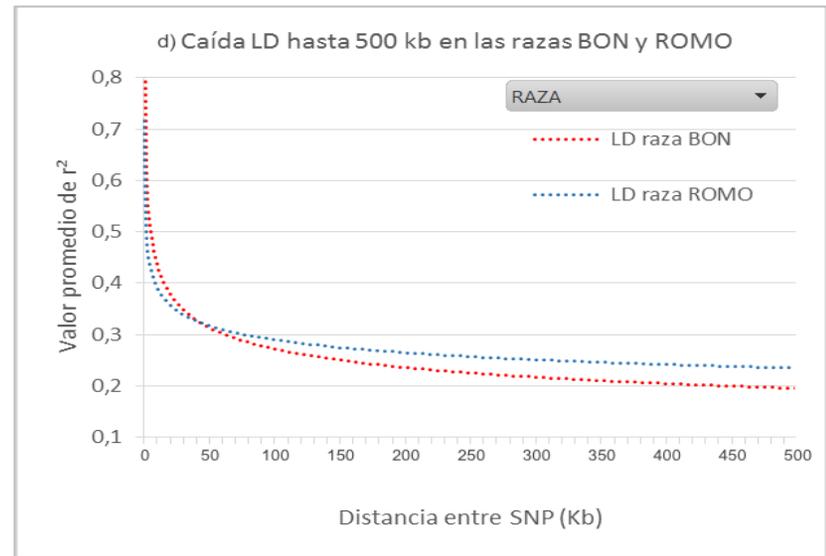
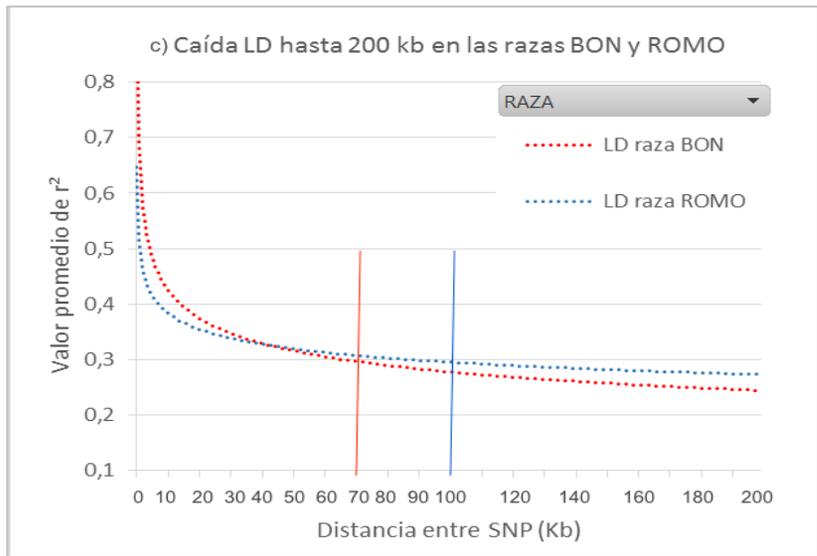
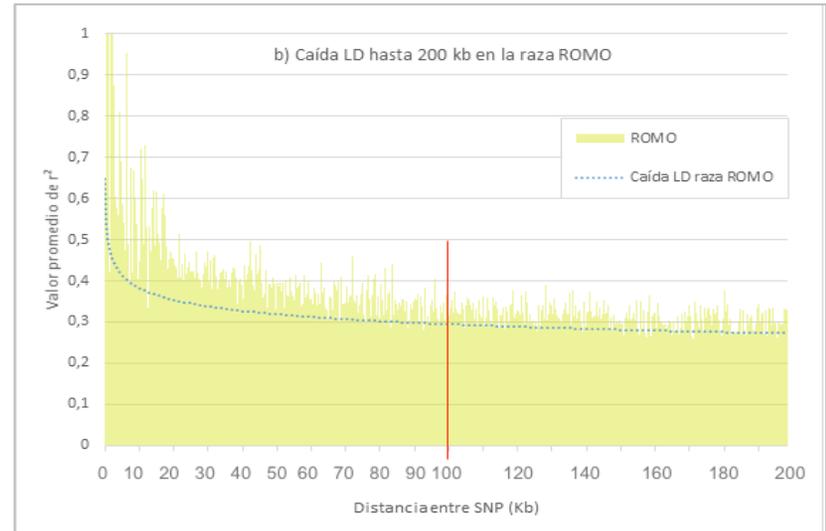
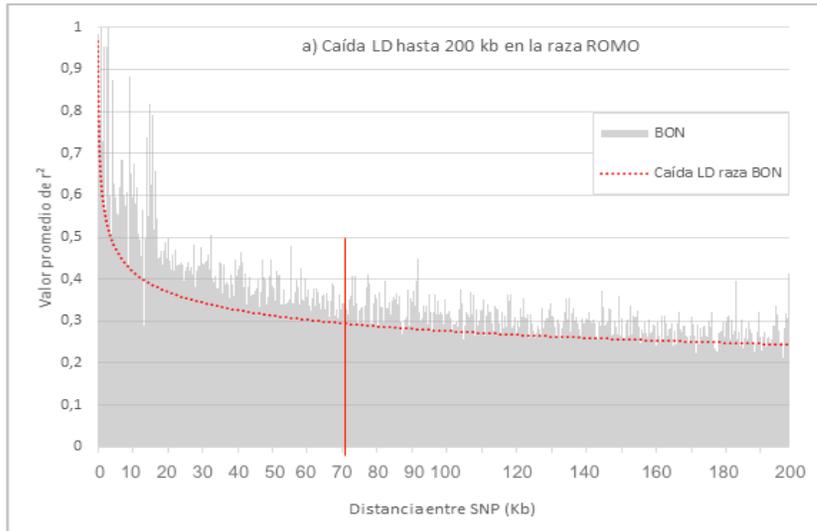


A partir de los SNPs efectivos obtenidos luego del proceso de QC (BON – 40.555 SNP, ROMO – 40.421 SNP), se evaluó el nivel de LD entre marcadores autosómicos a través del coeficiente de correlación entre dos loci ( $r^2$ ). Al considerar una distancia entre marcadores menor o igual a 100Kb, se obtuvieron 28.830 combinaciones de pares de SNP para estimar LD a través de los 29 autosomas en la raza BON, y 28.924 combinaciones en la raza ROMO. A una distancia  $\leq 1\text{Mb}$ , la cantidad de combinaciones entre marcadores ( $r^2 \geq 0,1$ ) se incrementó a 177.395 en la raza BON y 222.480 en la raza ROMO.

El análisis del nivel de LD hasta 200Kb, usando ventanas de 1Kb, se presenta en la Figura 2-3, de manera general para las dos razas evaluadas en este estudio el LD inicia en un nivel alto, con valores de  $r^2 > 0,9$  en las primeras ventanas (1Kb), seguido de un rápido descenso, con una tendencia bastante variable hasta llegar a 20Kb, alcanzando en este punto niveles promedio de  $r^2$  de 0,38 en la raza ROMO y 0,41 en la raza BON, a partir de esta distancia el patrón de caída del LD se vuelve más estable, siguiendo una tendencia más definida. A una distancia de 200Kb el  $r^2$  presenta un valor promedio de 0,27 en la raza ROMO y 0,25 en la raza BON (Figura 2-3 c), al comparar entre las dos razas el patrón de caída del LD, se evidencia que, a distancias cortas, menores a 40Kb, el valor promedio de  $r^2$  es superior en la raza BON, sin embargo, a partir de este punto se presenta un mayor rompimiento del LD en esta raza, comparado con la raza ROMO que tiene un nivel de LD superior a partir de 40Kb (Figura 2-3 c).

Al evaluar la caída del LD para distancias mayores a 100Kb hasta 1Mb, se evidencia una tendencia decreciente en el valor promedio de  $r^2$  (Figura 2-2 d), sin registrar caídas fuertes. En el caso de la raza ROMO a partir de 100Kb se encontró un valor promedio de  $r^2$  de  $0,29 \pm 0,20$ , alcanzado un valor de  $0,23 \pm 0,13$  a una distancia de 1Mb, a esta distancia un 24% de las comparaciones entre pares de SNP presentan un  $r^2 \geq 0,3$  (Tabla 2-2), por su parte la raza BON presentó un valor promedio de  $r^2$  de  $0,26 \pm 0,17$  a una distancia de 100Kb, llegando a un valor de  $0,19 \pm 0,10$  a una distancia entre pares de SNP de 1Mb, en este punto un 16% de las comparaciones entre pares de SNP presentan un  $r^2 \geq 0,3$  (Tabla 2-2), estos valores difieren a los reportados para otras razas de ganado, que por lo general a distancias de 1Mb muestran niveles de  $r^2$  inferiores a 0,1 (McKay et al. 2007; Gautier et al. 2007; de Roos et al. 2008; Villa-Angulo et al. 2009; Qanbari et al. 2010; Lu et al. 2012; Pérez O'Brien et al. 2014a).

**Figura 2-3:** Caída promedio del LD ( $r^2$ ) de 0 a 200 Kb en las razas BON (a) y ROMO (b), comparación entre razas (c) y caída del LD ( $r^2$ ) de 0 a 500 Kb en las dos razas (d).



**Tabla 2-2: Desequilibrio de Ligamiento ( $r^2$ ) entre pares (N) de SNPs separados por diferentes distancias en todos los autosomas.**

Distancia entre SNP (Kb)	N		Promedio $r^2 \pm$ SD		Mediana		% $r^2 \geq 0,3^1$	
	ROMO	BON	ROMO	BON	ROMO	BON	ROMO	BON
0 a 10	157	147	0,45±0,32	0,50±0,33	0,29	0,30	48	50
10 a 19	352	368	0,39±0,26	0,43±0,28	0,27	0,32	45	54
20 a 29	4818	4534	0,40±0,27	0,41±0,28	0,28	0,30	47	50
30 a 39	3706	3503	0,37±0,25	0,38±0,26	0,27	0,27	44	46
40 a 49	3106	2930	0,35±0,24	0,35±0,24	0,26	0,26	44	44
50 a 59	3149	2871	0,34±0,24	0,33±0,24	0,25	0,25	40	41
60 a 69	3024	2832	0,32±0,22	0,32±0,22	0,24	0,24	39	40
70 a 79	2932	2694	0,32±0,22	0,30±0,21	0,24	0,23	39	37
80 a 89	2941	2564	0,31±0,21	0,30±0,20	0,23	0,23	37	36
90 a 100	2785	2467	0,29±0,20	0,29±0,20	0,23	0,22	34	34
100 a 200	20829	13429	0,28±0,18	0,26±0,17	0,23	0,22	35	34
200 a 300	18978	11421	0,25±0,15	0,22±0,14	0,22	0,20	31	26
300 a 400	18082	10402	0,25±0,15	0,21±0,12	0,21	0,19	29	22
400 a 500	17448	9677	0,24±0,14	0,20±0,11	0,21	0,19	27	20
500 a 600	16870	9452	0,24±0,14	0,20±0,11	0,20	0,18	27	19
600 a 700	16595	9168	0,23±0,13	0,20±0,10	0,20	0,18	26	18
700 a 800	16364	8872	0,23±0,13	0,19±0,10	0,20	0,18	26	17
800 a 900	16038	8694	0,23±0,13	0,19±0,10	0,20	0,18	25	16
900 a 1000	15892	8530	0,23±0,13	0,19±0,09	0,20	0,18	24	16

SNP: single-nucleotide polymorphism; SD: Standard deviation. <sup>1</sup>Percentage of SNP pairs with  $r^2 \geq 0.3$ .

## 2.5 Discusión

En promedio el valor de MAF para las dos razas evaluadas fue de  $0,27 \pm 0,14$ , con una mayor proporción de SNP que presentan valores altos de MAF, estos resultados coinciden con los valores reportados en otras razas taurinas (McKay et al. 2007; Matukumalli et al. 2009; Pérez O'Brien et al. 2014a), pero son superiores a los valores promedio de MAF encontrados en razas Indicus, que están entre 0,19 y 0,20 (Silva et al. 2010; Espigolan et al. 2013; Pérez O'Brien et al. 2014a), por lo general las razas Indicus presentan una tendencia opuesta en los niveles de MAF con respecto al ganado *Bos Taurus*, con una mayor proporción de alelos con bajas frecuencias ( $<0,2$ ) (Matukumalli et al. 2009; Villa-Angulo et al. 2009; Gibbs et al. 2009; Pérez O'Brien et al. 2014b), lo cual se ha asociado a una mayor diversidad genética en poblaciones Indicus, evidenciada a partir de datos de secuenciación (Gibbs et al. 2009; Murray et al. 2010). De acuerdo con Khatkar et al. (2008),

el umbral para MAF afecta de manera directa la distribución y la extensión del LD dentro de la población, dado que existe una asociación importante entre niveles altos de LD y una mayor proporción de SNP con valores altos de MAF especialmente para distancias cortas (Uimari et al. 2005; Sargolzaei et al. 2008; Pérez O'Brien et al. 2014a).

En el análisis del nivel de LD hasta 200Kb, usando ventanas de 1Kb, que se presenta en la Figura 2-3, se observa para las dos razas evaluadas un comportamiento bastante errático en la caída del LD en las primeras 20Kb (Figura 2-3 a y b), probablemente debido al bajo número de comparaciones entre pares de SNP con distancias iguales o menores a 20Kb, tal como se evidencia en los datos presentados en la Tabla 2-2. Estos resultados sugieren que al usar el conjunto de SNP contenidos en este Chip (BovineSNP50K\_v2) no existe coherencia en los niveles de LD que se pueden esperar para distancias genómicas inferiores a 20Kb, esto coinciden con lo reportado por Pérez O'Brien et al. (2014a) en un análisis de LD realizado en diferentes razas Taurinas e Indicus utilizando este mismo tipo de chip, en ese mismo estudio se encontró que para evaluar el DL a distancia cortas, es más eficiente el chip BovineHD (Illumina Inc. 2010) que alcanza una distancia media entre SNPs de ~ 5 Kb, a diferencia del BovineSNP50K\_v2 que alcanza una distancia promedio entre SNPs de ~ 49 Kb (Matukumalli et al. 2009).

Estudios previos han definido que un adecuado nivel de LD se relaciona con valores de  $r^2 \geq 0,3$ , este es el nivel mínimo requerido para desarrollar estudios de asociación y predicciones genómicas confiables (Kruglyak 1999; Meuwissen et al. 2001; Ardlie et al. 2002), en este estudio la raza ROMO presento un valor promedio de  $r^2$  igual a 0,3 a una distancia de 100Kb, mientras que la raza BON mostró una caída más rápida, alcanzando este mismo valor a una distancia de 70Kb. Estos resultados difieren de los valores promedio de caída de LD reportados para otras razas taurinas; en un estudio realizado por Pérez O'Brien et al. (2014) se encontró que razas taurinas como Angus, Pardo Suizo, Simmental y Holstein alcanzan un  $r^2$  promedio de 0,3 a una distancia de 40 a 50Kb, mientras que razas indicus como Gyr y Nelore, presentan un rompimiento del LD más rápido, llegando a este mismo valor de  $r^2$  a una distancia aproximada de 20 Kb, resultados similares se han encontrado en otras razas taurinas de leche y de carne, que alcanzan valores similares de  $r^2 (\geq 0,3)$  a distancias menores o iguales a 30 Kb (Bolormaa et al. 2011b; Larmer et al. 2014), sin embargo en ganado Holstein Sargolzaei et al. (2008) encontró valores óptimos de LD a distancias cercanas a 100 Kb, lo que coincide con los resultados encontrados en este estudio para las razas Criollas BON y ROMO. El mayor nivel de LD encontrado en

estas razas Criollas, posiblemente está asociado a la condición de población bajo conservación a la que pertenecen los animales evaluados en este estudio (Vásquez et al. 2007), lo que se relaciona con un reducido tamaño efectivo de población. Estudios sobre LD en poblaciones de ganado han demostrado que su LD es mucho más extenso que en otras especies (por ejemplo, seres humanos), esto es debido principalmente a un tamaño efectivo de población más pequeño y, en algunas circunstancias, a la selección intensiva para rasgos productivos que se ha dado recientemente en las poblaciones de ganado (McRae et al. 2002; McKay et al. 2007; Khatkar et al. 2008).

Teniendo en cuenta que un valor de  $r^2$  por encima de 0,3, es el nivel de LD recomendado para lograr una adecuada capacidad de detección de asociaciones reales en los GWAS (Kruglyak 1999; Ardlie et al. 2002), y de acuerdo con los resultados de este estudio, ese umbral de  $r^2$  implicaría distancias entre marcadores  $\leq 70\text{Kb}$  en la raza BON y distancias  $\leq 100\text{Kb}$  para la raza ROMO. Dado que la distancia promedio entre marcadores reportada para el chip de 50K, es de 49.4Kb (Illumina Inc. 2016), los niveles de LD encontrados en este estudio sugieren que al utilizar como plataforma de genotipado el Chip BovineSNP50K\_v2, es posible tener una adecuada cobertura a lo largo del genoma de estas razas Criollas, logrando capturar el efecto de la mayoría de QTL relacionados con rasgos de interés productivo, asegurando con esto una adecuada capacidad de predicción en los análisis genómicos (GWAS, GS) (Kizilkaya et al. 2010). Esta premisa también se puede soportar en otros estudios realizados en razas taurinas de leche, los cuales han demostrado que el aumento de la densidad del chip de 50K al chip HD ( $>700\text{mil}$  SNP) solo incrementa ligeramente la exactitud de las predicciones genómicas (Su et al. 2012; Erbe et al. 2012; VanRaden et al. 2013), sin embargo este impacto debe ser mayor para las poblaciones indicus que por lo general presentan menores niveles de LD (Pérez O'Brien et al. 2014a).

Los mayores niveles de LD observados en las razas Criollas BON y ROMO, con respecto a los valores de LD reportados para distancia similares (Kb) en otras razas de ganado bovino, puede estar relacionado con uno o varios de los siguientes factores: una mayor relación de parentesco dentro de la población de estudio (Purfield et al. 2012), a un tamaño efectivo de la población reducido de manera generalizada a lo largo de la historia de estas razas (efecto fundador) (Villa-Angulo et al. 2009), finalmente, una reducción más reciente en el tamaño efectivo de la población debido a un evento de cuello de botella y deriva genética (Purfield et al. 2012), este último, es un evento probable para este tipo de razas,

que durante los últimos años han registrado una fuerte reducción de su población, debido a la importación de razas especializadas y/o razas adaptadas a las condiciones tropicales del país (ganado Cebuino), que derivó en un desplazamiento generalizado de las razas Criollas Locales, las cuales actualmente cuentan con la protección del estado, bajo la figura de Bancos de Germoplasma Animal (Vásquez et al. 2007). Los incrementos en el nivel de LD también pueden ser una consecuencia de la presión de selección para rasgos de interés productivo (Thévenon et al. 2007), sin embargo sobre las poblaciones evaluadas en este estudio la presión de selección ha sido mínima (Martínez et al. 2011).

Se ha comprobado que el tamaño efectivo de población presenta una relación inversa con el nivel de LD, por lo general grupos raciales con un tamaño efectivo de población grande, presentan menores valores de LD (Sölkner et al. 1998; Khatkar et al. 2008; Pausch et al. 2013), esta condición se ha evidenciado en razas Indicus que se caracterizan por presentar tamaños efectivos de población grandes, con una caída más rápida del LD, alcanzando valores promedio de  $r^2 \geq 0,3$  a una distancia de 20 Kb, a diferencia de las razas Taurinas que tienen tamaños efectivos de población más pequeños, con valores óptimos de LD ( $r^2 \geq 0,3$ ) a distancias entre 40 a 50 Kb (Pérez O'Brien et al. 2014a). También se ha encontrado que en poblaciones con mayores niveles de endogamia, como las razas lecheras taurinas, el LD es más fuerte (Ferenčaković et al. 2013). En este estudio las razas Criollas BON y ROMO presentan un menor rompimiento del LD, con un valor promedio de  $r^2 \geq 0,3$  a una distancia de 70 y 100Kb respectivamente, lo cual sugiere que presentan un tamaño efectivo de población reducido, posiblemente, asociado también a una disminución de la variabilidad genética dentro de estas poblaciones.

En los análisis de GWAS, la proximidad y la existencia de LD entre los marcadores utilizados aumentará las posibilidades de encontrar QTL y regiones cromosómicas de menor tamaño físico que están menos afectadas por la recombinación (Pérez O'Brien et al. 2014a). Muchos QTL segregan exclusivamente en una población, mientras que algunos pueden ser compartidos a través de razas diferentes, sin embargo, al considerar la validez de los resultados entre razas es importante recordar las diferencias de LD que existen entre diferentes razas, incluso en casos de niveles similares de LD existe una posibilidad de que se presenten diferentes fases de LD en cada raza (Bolormaa et al. 2013). Estudios previos han encontrado que es probable que la fase de LD sea conservada entre razas de ganado solamente a pequeñas distancias (menos de 10Kb) (de Roos et al. 2008) y podría incluso

diferir completamente entre (sub) especies de ganado (Bolormaa et al. 2013), lo que implica que la asociación de QTLs y marcadores genéticos a través de diferentes razas sólo se mantiene cuando el marcador está muy cerca del QTL, y sólo para razas de la misma (sub) especie (Pérez O'Brien et al. 2014a).

## 2.6 Conclusión

En las razas Criollas BON y ROMO se encontró una mayor proporción de SNP que presentan valores altos ( $\geq 0,3$ ) de frecuencia del alelo menor (MAF), esto puede estar relacionado con los niveles altos de LD encontrados en estas poblaciones, que son superiores a los reportados en otras razas taurinas, alcanzando valores óptimos de LD ( $r^2 \geq 0,3$ ) hasta una distancia de 70Kb en la raza BON y de 100Kb en la raza Romo, lo cual posiblemente está asociado a su condición de población cerrada, que se relaciona con un reducido tamaño efectivo de la población, y que también ha limitado la ocurrencia de eventos recientes de introgresión genética. Los niveles de LD y la distribución de frecuencias alélicas encontrados en este estudio sugieren que al utilizar el Chip BovineSNP50K\_v2 como plataforma de genotipado, es posible tener una adecuada cobertura a lo largo del genoma de este tipo de razas Criollas, lo que puede permitir la captura del efecto de la mayoría de QTL relacionados con rasgos de interés productivo y asegura una adecuada capacidad de predicción en los análisis genómicos (GWAS, GS).

## 2.7 Bibliografía

Amaral AJ, Megens H-J, Crooijmans RPMA, Heuven HCM and Groenen MAM (2008) Linkage disequilibrium decay and haplotype block structure in the pig. *Genetics* 179:569–79. doi: 10.1534/genetics.107.084277

Andreescu C, Avendano S, Brown SR, Hassen A, Lamont SJ and Dekkers JCM (2007) Linkage disequilibrium in related breeding lines of chickens. *Genetics* 177:2161–9. doi: 10.1534/genetics.107.082206

Ardlie KG, Kruglyak L and Seielstad M (2002) Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* 3:299–309. doi: 10.1038/nrg777

Beghain J, Boitard S, Weiss B, Boussaha M, Gut I and Rocha D (2013) Genome-wide linkage disequilibrium in the Blonde d'Aquitaine cattle breed. *J Anim Breed Genet* 130:294–302. doi: 10.1111/j.1439-0388.2012.01020.x

Bohmanova J, Sargolzaei M and Schenkel FS (2010) Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. *BMC Genomics* 11:421. doi: 10.1186/1471-2164-11-421

- Bolormaa S, Hayes BJ, Savin K, Hawken R, Barendse W, Arthur PF, Herd RM and Goddard ME (2011) Genome-wide association studies for feedlot and growth traits in cattle. *J Anim Sci* 89:1684–1697. doi: 10.2527/jas.2010-3079
- Bolormaa S, Pryce JE, Kemper KE, Hayes BJ, Zhang Y, Tier B, Barendse W, Reverter A and Goddard ME (2013) Detection of quantitative trait loci in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using genome-wide association studies. *Genet Sel Evol* 45:43. doi: 10.1186/1297-9686-45-43
- Bush WS, Chen G, Torstenson ES and Ritchie MD (2009) LD-spline: mapping SNPs on genotyping platforms to genomic regions using patterns of linkage disequilibrium. *BioData Min* 2:7. doi: 10.1186/1756-0381-2-7
- Carlson CS, Eberle MA, Kruglyak L and Nickerson DA (2004) Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature* 429:446–52. doi: 10.1038/nature02623
- de Roos APW, Hayes BJ, Spelman RJ and Goddard ME (2008) Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein-Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics* 179:1503–12. doi: 10.1534/genetics.107.084301
- Erbe M, Hayes BJ, Matukumalli LK, Goswami S, Bowman PJ, Reich CM, Mason BA and Goddard ME (2012) Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. *J Dairy Sci* 95:4114–29. doi: 10.3168/jds.2011-5019
- Espigolan R, Baldi F, Boligon A a, Souza FR, Gordo DG, Tonussi RL, Cardoso DF, Oliveira HN, Tonhati H, Sargolzaei M et al. (2013) Study of whole genome linkage disequilibrium in Nelore cattle. *BMC Genomics* 14:305. doi: 10.1186/1471-2164-14-305
- Ferenčaković M, Hamzić E, Gredler B, Solberg TR, Klemetsdal G, Curik I and Sölkner J (2013) Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. *J Anim Breed Genet* 130:286–93. doi: 10.1111/jbg.12012
- Gautier M, Faraut T, Moazami-Goudarzi K, Navratil V, Foglio M, Grohs C, Boland A, Garnier J-G, Boichard D, Lathrop GM et al. (2007) Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. *Genetics* 177:1059–70. doi: 10.1534/genetics.107.075804
- Gibbs RA, Taylor JF, Van Tassell CP, Barendse W, Eversole KA, Gill CA, Green RD, Hamernik DL, Kappes SM, Lien S et al. (2009) Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science* 324:528–32. doi: 10.1126/science.1167936
- Goldstein DB (2001) Islands of linkage disequilibrium. *Nat Genet* 29:109–11. doi: 10.1038/ng1001-109
- Hill WG and Robertson A (1968) Linkage disequilibrium in finite populations. *Theor Appl Genet* 38:226–31. doi: 10.1007/BF01245622
- Hozé C, Fouilloux M-N, Venot E, Guillaume F, Dassonneville R, Fritz S, Ducrocq V, Phocas F, Boichard D and Croiseau P (2013) High-density marker imputation accuracy in sixteen French cattle breeds. *Genet Sel Evol* 45:33. doi: 10.1186/1297-9686-45-33
- Illumina Inc. (2016) BovineSNP50 Genotyping BeadChip. In: [http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_bovine\\_snp50.pdf](http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf).
- Illumina Inc. (2010) BovineHD Genotyping BeadChip. Accessed Feb 22, 2015 05:0–3.
- Ke X, Hunt S, Tapper W, Lawrence R, Stavrides G, Ghori J, Whittaker P, Collins A, Morris AP, Bentley D et al. (2004) The impact of SNP density on fine-scale patterns of linkage disequilibrium. *Hum Mol Genet* 13:577–88. doi: 10.1093/hmg/ddh060
- Khatkar MS, Nicholas FW, Collins AR, Zenger KR, Cavanagh JAL, Barris W, Schnabel RD, Taylor JF and Raadsma HW (2008) Extent of genome-wide linkage disequilibrium in Australian Holstein-Friesian cattle based on a high-density SNP panel. *BMC Genomics* 9:187. doi: 10.1186/1471-2164-9-187

- Kizilkaya K, Fernando RL and Garrick DJ (2010) Genomic prediction of simulated multibreed and purebred performance using observed fifty thousand single nucleotide polymorphism genotypes. *J Anim Sci* 88:544–51. doi: 10.2527/jas.2009-2064
- Kruglyak L (1999) Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet* 22:139–44. doi: 10.1038/9642
- Larmer SG, Sargolzaei M and Schenkel FS (2014) Extent of linkage disequilibrium, consistency of gametic phase, and imputation accuracy within and across Canadian dairy breeds. *J Dairy Sci* 97:3128–41. doi: 10.3168/jds.2013-6826
- Lu D, Sargolzaei M, Kelly M, Li C, Vander Voort G, Wang Z, Plastow G, Moore S and Miller SP (2012) Linkage disequilibrium in Angus, Charolais, and Crossbred beef cattle. *Front Genet* 3:152. doi: 10.3389/fgene.2012.00152
- Martínez R, Gallego J, Onofre G, Pérez J and Vasquez R (2011) Evaluación de la variabilidad y potencial genético de poblaciones de bovinos Criollos colombianos. *Anim Genet Resour Inf* 44:57–66. doi: 10.1017/S1014233900002868
- Matukumalli LK, Lawley CT, Schnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, O'Connell J, Moore SS, Smith TPL, Sonstegard TS et al. (2009) Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS One* 4:e5350. doi: 10.1371/journal.pone.0005350
- McKay SD, Schnabel RD, Murdoch BM, Matukumalli LK, Aerts J, Coppieters W, Crews D, Dias Neto E, Gill CA, Gao C et al. (2007) Whole genome linkage disequilibrium maps in cattle. *BMC Genet* 8:74. doi: 10.1186/1471-2156-8-74
- Meadows JRS, Chan EKF and Kijas JW (2008) Linkage disequilibrium compared between five populations of domestic sheep. *BMC Genet* 9:61. doi: 10.1186/1471-2156-9-61
- Meuwissen THE (2009) Accuracy of breeding values of “unrelated” individuals predicted by dense SNP genotyping. *Genet Sel Evol* 41:35. doi: 10.1186/1297-9686-41-35
- Meuwissen THE, Hayes BJ and Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819–1829. doi: 11290733
- Murray C, Huerta-Sanchez E, Casey F and Bradley DG (2010) Cattle demographic history modelled from autosomal sequence variation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:2531–9. doi: 10.1098/rstb.2010.0103
- Pausch H, Aigner B, Emmerling R, Edel C, Götz K-U and Fries R (2013) Imputation of high-density genotypes in the Fleckvieh cattle population. *Genet Sel Evol* 45:3. doi: 10.1186/1297-9686-45-3
- Pérez O'Brien AM, Mészáros G, Utsunomiya YT, Sonstegard TS, Garcia JF, Van Tassell CP, Carneiro R, da Silva MVB and Sölkner J (2014a) Linkage disequilibrium levels in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using medium and high density SNP chip data and different minor allele frequency distributions. *Livest Sci* 166:121–132. doi: 10.1016/j.livsci.2014.05.007
- Pérez O'Brien AM, Utsunomiya YT, Mészáros G, Bickhart DM, Liu GE, Van Tassell CP, Sonstegard TS, Da Silva MVB, Garcia JF and Sölkner J (2014b) Assessing signatures of selection through variation in linkage disequilibrium between taurine and indicine cattle. *Genet Sel Evol* 46:19. doi: 10.1186/1297-9686-46-19
- Porto-Neto LR, Kijas JW and Reverter A (2014) The extent of linkage disequilibrium in beef cattle breeds using high-density SNP genotypes. *Genet Sel Evol* 46:22. doi: 10.1186/1297-9686-46-22
- Pritchard JK and Przeworski M (2001) Linkage disequilibrium in humans: models and data. *Am J Hum Genet* 69:1–14. doi: 10.1086/321275
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ et al. (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81:559–75. doi: 10.1086/519795

- Purfield DC, Berry DP, McParland S and Bradley DG (2012) Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genet* 13:70. doi: 10.1186/1471-2156-13-70
- Qanbari S, Pimentel ECG, Tetens J, Thaller G, Lichtner P, Sharifi AR and Simianer H (2010) The pattern of linkage disequilibrium in German Holstein cattle. *Anim Genet* 41:346–56. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.02011.x
- Reich DE, Cargill M, Bolk S, Ireland J, Sabeti PC, Richter DJ, Lavery T, Kouyoumjian R, Farhadian SF, Ward R et al. (2001) Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature* 411:199–204. doi: 10.1038/35075590
- Sargolzaei M, Schenkel FS, Jansen GB and Schaeffer LR (2008) Extent of linkage disequilibrium in Holstein cattle in North America. *J Dairy Sci* 91:2106–17. doi: 10.3168/jds.2007-0553
- Silva CR, Neves HHR, Queiroz SA, Sena JAD and Pimentel ECG (2010) Extent of linkage disequilibrium in Brazilian Gyr dairy cattle based on genotypes of AI sires for dense SNP markers. *Proc 9th World Congr Genet Appl to Livest Prod* 1-6 August 2010; Leipzig 1 – 29.
- Sölkner J, Filipcic L and Hampshire N (1998) Genetic variability of populations and similarity of subpopulations in Austrian cattle breeds determined by analysis of pedigrees. *Anim Sci* 67:249–256. doi: 10.1017/S1357729800010006
- Su G, Brøndum RF, Ma P, Guldbbrandtsen B, Aamand GP and Lund MS (2012) Comparison of genomic predictions using medium-density (~54,000) and high-density (~777,000) single nucleotide polymorphism marker panels in Nordic Holstein and Red Dairy Cattle populations. *J Dairy Sci* 95:4657–65. doi: 10.3168/jds.2012-5379
- Teo YY, Small KS, Fry AE, Wu Y, Kwiatkowski DP and Clark TG (2009) Power consequences of linkage disequilibrium variation between populations. *Genet Epidemiol* 33:128–35. doi: 10.1002/gepi.20366
- The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, Elsik CG, Tellam RL, Worley KC, Gibbs R a, Muzny DM, Weinstock GM, Adelson DL, Eichler EE, Elnitski L et al. (2009) The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. *Science* 324:522–528. doi: 10.1126/science.1169588
- Thévenon S, Dayo GK, Sylla S, Sidibe I, Berthier D, Legros H, Boichard D, Eggen A and Gautier M (2007) The extent of linkage disequilibrium in a large cattle population of western Africa and its consequences for association studies. *Anim Genet* 38:277–86. doi: 10.1111/j.1365-2052.2007.01601.x
- Uimari P and Tapio M (2011) Extent of linkage disequilibrium and effective population size in Finnish Landrace and Finnish Yorkshire pig breeds. *J Anim Sci* 89:609–14. doi: 10.2527/jas.2010-3249
- VanRaden PM, Null DJ, Sargolzaei M, Wiggans GR, Tooker ME, Cole JB, Sonstegard TS, Connor EE, Winters M, van Kaam JBCHM et al. (2013) Genomic imputation and evaluation using high-density Holstein genotypes. *J Dairy Sci* 96:668–78. doi: 10.3168/jds.2012-5702
- Vásquez R, Martínez R, Rodríguez O, Ballesteros H, Ossa G, Abuabara Y, Pérez J, Neira J, Onofre G, Polanco N et al. (2007) Manual de conservacion, multiplicacion y mejoramiento de las razas bovinas Criollas colombianas, 1ra ed. Produmedios, Mosquera (Cundinamarca)
- Villa-Angulo R, Matukumalli LK, Gill CA, Choi J, Van Tassell CP and Grefenstette JJ (2009) High-resolution haplotype block structure in the cattle genome. *BMC Genet* 10:19. doi: 10.1186/1471-2156-10-19
- Wall JD and Pritchard JK (2003) Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* 4:587–97. doi: 10.1038/nrg1123
- Wiggans GR, Sonstegard TS, VanRaden PM, Matukumalli LK, Schnabel RD, Taylor JF, Schenkel FS and Van Tassell CP (2009) Selection of single-nucleotide polymorphisms and quality of genotypes used in genomic evaluation of dairy cattle in the United States and Canada. *J Dairy Sci* 92:3431–6. doi: 10.3168/jds.2008-1758

---

Wiggans GR, VanRaden PM, Bacheller LR, Tooker ME, Hutchison JL, Cooper T a and Sonstegard TS (2010) Selection and management of DNA markers for use in genomic evaluation. *J Dairy Sci* 93:2287–2292. doi: 10.3168/jds.2009-2773

## **3. Capítulo 3: Estudio de asociación genómica para características de crecimiento en ganado Blanco Orejinegro y Romosinuano.**

### **3.1 Resumen**

Las características relacionadas con el crecimiento son de gran importancia para la industria del ganado de carne, dado que afectan de manera directa la rentabilidad de las ganaderías, por lo cual el crecimiento es un rasgo de gran interés dentro de los programas de mejoramiento genético desarrollados en razas de carne. Varios estudios han demostrado que el progreso genético para este tipo de rasgos se puede acelerar al utilizar información del ADN de los animales en la estimación del mérito genético. En este estudio información de 52mil polimorfismos de nucleótido simple (SNP) obtenida a partir de dos poblaciones de ganado Criollo Colombiano (Romosinuano y Blanco Orejinegro) fue usada para desarrollar un GWAS para 4 características de crecimiento, basado en la metodología de single-step genomic-BLUP (ssBLUP), el análisis de asociación permitió identificar 28 regiones genómicas de interés en la raza BON, y 26 en la raza ROMO, que están asociadas con 53 posibles genes candidatos involucrados en la regulación del crecimiento en este tipo de ganado. En particular, se detectaron algunas asociaciones significativas cerca de genes que tienen un rol conocido en la regulación del crecimiento de los animales, tales como LEPR (receptor de la leptina), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), LEP (leptina), Myf5 (factor miogénico 5), TG (Tiroglobulina) y PLAG1 (zinc finger), así, como otras regiones con asociaciones importantes que están relacionadas con genes que intervienen en una serie de mecanismos biológicos con un papel conocido en otros organismos (Homo Sapiens y Mus Musculus). Los resultados de este estudio pueden ayudar a mejorar el conocimiento sobre la estructura genética que subyace a la regulación del crecimiento en este tipo de animales, y proporcionan información útil para el desarrollo de esquemas de

Selección Genómica (GS), que permitan mejorar la tasa de crecimiento en estas razas de ganado Criollo Colombiano.

**Palabras clave:** Razas Criollas, Ganado de Carne, BovineSNP50, peso al nacimiento, crecimiento postnatal, Polimorfismo de Nucleótido Simple (SNP), QTL.

**Keywords:** creole cattle, beef cattle, BovineSNP50, birth weight, postnatal growth, single nucleotide polymorphism (SNP), quantitative trait loci (QTL).

## 3.2 Introducción

Características de crecimiento son generalmente incluidas dentro de los criterios de selección en los programas de mejoramiento genético del ganado de carne, debido a su asociación con la producción de carne y la edad al sacrificio, que son de gran importancia económica tanto para los ganaderos como para la industria (Barwick and Henzell 2005; Alberta Agriculture and Rural Development. 2006; Doran et al. 2014). Una de las características de crecimiento que es comúnmente utilizada en los procesos de selección es la medición del peso corporal, que se puede tomar desde el nacimiento y durante toda la vida del animal (Buzanskas et al. 2014).

Por lo general, las características relacionadas con el crecimiento corporal presentan heredabilidad y coeficientes de correlación genética de media a alta magnitud (Baldi et al. 2010; Buzanskas et al. 2010; Gavioli et al. 2012; Ossa et al. 2014), por lo cual en la mayoría de las razas de carne la selección basada en el mérito genético aplicada a través de múltiples generaciones, ha sido eficaz para aumentar el crecimiento postnatal de los animales (MacNeil et al. 1998; MacNeil 2003; Bennett et al. 2008), sin embargo, el progreso genético de este tipo de rasgos se puede acelerar si polimorfismos del ADN asociados con genes responsables de la variación genética en el peso al nacer y en el crecimiento postnatal son determinados e incluidos en la estimación del mérito genético de los animales (Meuwissen et al. 2001; Snelling et al. 2010; Rolf et al. 2010), este incremento es más evidente en poblaciones que no han sido objeto de selección, como ocurre con los recursos genéticos locales que existen en muchos de los países en vía de desarrollo (FAO 2009).

En Colombia existen algunas razas bovinas locales, como las razas Criollas Blanco Orejinegro (BON) y Romosinuano (ROMO) (Martínez C. 2011a; Martínez C. 2011b), que

representan un recurso genético local de gran importancia para la producción de carne en zonas tropicales (Vásquez et al. 2007; Martínez et al. 2011), actualmente como complemento a los programas de conservación de estas razas Criollas, el gobierno local financia programas de mejoramiento genético, que se basan en el implementación de metodologías de selección que permiten usar la información genómica de los animales para estimar su mérito genético, buscando mejorar la identificación y selección de reproductores superiores para características de importancia económica. La aplicación de esta metodología de selección permite incrementar de manera significativa la tasa de ganancia genética, logrando obtener una mayor productividad acumulada en cada generación (Meuwissen et al. 2001; Schaeffer 2006; Hayes et al. 2009a; Miller 2010; Meuwissen et al. 2013), con lo cual será posible mejorar en el mediano plazo la competitividad de las razas bovinas Criollas frente a otras razas introducidas, y lograr una mayor participación en los sistemas regionales de producción de carne.

Bajo este contexto, el primer paso para poder utilizar la información del ADN de los animales en la evaluación genética de razas Criollas locales, es la identificación de marcadores moleculares que se encuentren en desequilibrio de ligamiento (LD) con genes o mutaciones causales que regulan la expresión de las características de interés (Meuwissen et al. 2001; Snelling et al. 2010; Rolf et al. 2010). En la actualidad, los avances tecnológicos que se han dado en el campo de la genética molecular han impulsado el desarrollo de nuevas tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, que han permitido identificar una gran cantidad de variaciones en el ADN de los animales, principalmente polimorfismos de nucleótido simple (SNP) (Zhang et al. 2012). La disponibilidad de métodos eficientes para el genotipado de SNPs a gran escala, como los microarrays de alta densidad (o chips de SNPs) (Van Tassell et al. 2008; Matukumalli et al. 2009), junto con el perfeccionamiento de los métodos estadísticos requeridos para el análisis de la información genómica (Nicolazzi et al. 2015), han permitido desarrollar una nueva metodología para la búsqueda de genes candidatos, que se conoce como análisis de asociación genómica o GWAS por sus siglas en inglés (Hirschhorn and Daly 2005; Visscher et al. 2007; Lee et al. 2008), en GWAS se utiliza la información de miles de SNP distribuidos de manera uniforme en todo el genoma, junto con información del fenotipo y del pedigrí de los animales, para llevar a cabo el análisis de asociación e identificar los genes o elementos reguladores que controlan la variación genética de las características de interés económico (Chan et al. 2009; Goddard and Hayes 2009; Zhang et al. 2012), esta metodología se ha convertido en el método de elección para

estudiar los mecanismos genéticos que controlan la expresión de rasgos complejos de carácter cuantitativo (MacLeod et al. 2010; Zhang et al. 2012).

Durante los últimos años se han publicado los resultados de una gran cantidad de análisis GWAS, que han permitido identificar un número importante de regiones cromosómicas (QTL), marcadores (SNP) y genes asociados con características de crecimiento en el ganado bovino (Gutiérrez-Gil et al. 2009; Snelling et al. 2010; McClure et al. 2010; Pausch et al. 2011; Bolormaa et al. 2011b; Bolormaa et al. 2011a; Bolormaa et al. 2011c; Peters et al. 2012; Zhang et al. 2012; Lindholm-Perry et al. 2012a; Lu et al. 2013a; Buzanskas et al. 2014; Doran et al. 2014; Martínez et al. 2014; Saatchi et al. 2014a; Grossi et al. 2015; Sharma et al. 2015). Los resultados generados en este tipo de análisis se han utilizado para mejorar la estimación del mérito genético de los animales mediante la optimización de la selección genómica, logrando incrementos importantes en la tasa de mejora genética para características relacionadas con la producción de leche y carne (Hayes et al. 2009a; Meuwissen 2009; Snelling et al. 2010; Rolf et al. 2010; VanRaden et al. 2011; Zhang et al. 2012; Meuwissen et al. 2013; Winkelman et al. 2015; Sharma et al. 2015).

Bajo este contexto, el objetivo de este estudio fue desarrollar un GWAS para cuatro características de crecimiento en dos poblaciones de ganado Criollo colombiano (razas Romosinuano y Blanco Orejinegro), buscando identificar regiones genómicas que expliquen una parte importante de la variación genética asociada a estas características, y su posible relación con genes candidatos que puedan participar en la regulación del crecimiento en este tipo de animales, para lo cual se utilizó información de 52mil SNPs incluidos en el BovineSNP50 de Illumina, siguiendo la metodología de *Single Step Genomic* BLUP (ssBLUP) (Legarra et al. 2009; Misztal et al. 2009; Christensen and Lund 2010; Wang et al. 2012)

### 3.3 Materiales y métodos

**Animales y datos fenotípicos:** los datos utilizados en este estudio corresponden a animales de dos razas Criollas Colombianas, que se obtuvieron de dos poblaciones diferentes, como son el Banco de Germoplasma de la raza Romosinuano ubicado en el C.I. Turipaná, de Corpoica, localizado en el Municipio de Cerete, Córdoba y al Banco de Germoplasma de la raza Blanco Orejinegro ubicado en el C.I. El Nus, de Corpoica,

localizado en el Municipio de San Roque, Antioquia. Para el análisis de asociación se utilizó una base de datos genealógicos conformada por 7,078 animales ROMO y 8,255 animales BON, que incluyen respectivamente, 4,063 y 3,922 animales con registros productivos para una o varias de las siguientes características: peso al nacimiento (PN), peso al destete (PD), peso a los 16 meses (P16m) y peso a los 24 meses (P24m) (ver Tabla 3-1), a partir de esta información se seleccionó 596 animales de la raza BON y 569 de la raza ROMO para ser genotipados. Tanto la información fenotípica como la genealogía de los animales, fueron suministrados por el programa de Bancos de Germoplasma Animal que administra la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).

**Información genómica (SNP):** en total, datos de 52,784 SNP fueron usados en este estudio, esta información fue obtenida de dos paneles diferentes de SNP de alta densidad, el chip de DNA BovineSNP50K\_v2 (Illumina Inc. 2016), que incluye 54,609 SNP y el Chip de DNA IlluminaSNP7K que comprende 6,909 SNP (Illumina Inc. 2016). El chip de media densidad (54K) se utilizó para el genotipado de 866 animales, principalmente toros y vacas que son informativos dentro de la población, mientras que el de baja densidad (7K) se usó para el genotipado 299 animales, principalmente crías con información fenotípica.

Las muestras de ADN extraídas a partir de sangre y/o semen, se genotiparon en el Laboratorio de Genómica del C.I. Corpoica Tibaitatá siguiendo el protocolo Infinium HD Assay (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), al final del proceso para obtener los genotipos cada chip fue escaneado en un equipo HiScan® y los datos generados se analizaron con el software GenomeStudio (Illumina Inc.), que asigna los genotipos de cada SNP basado en las diferencias de la señal y la intensidad del color, y permite realizar una edición preliminar de los datos en términos de la calidad del genotipado (Call Rate y GenTrain). Se aplicó procedimientos de control de calidad (QC) a los genotipos de los SNPs de manera independiente para cada grupo racial y plataforma de genotipado, de acuerdo con las reglas descritas por Wiggans et al. (2010) y con el uso del software PLINK v1.9 (Purcell et al. 2007), fueron excluidos SNP si el Call Rate o tasa de llamado era menor al 90%, si presentaban una desviación extrema del equilibrio Hardy-Weinberg ( $P < 0,01$ ) (por ejemplo, SNP en cromosomas autosómicos que presenten ambos genotipos homocigotos, pero sin heterocigotos), lo mismo para SNP con posición genómica desconocida, o si estaban ubicados en cromosomas sexuales, también si eran monomórficos o si el alelo menos frecuente (AMF) estaba por debajo del 0.1%. Igualmente, se eliminaron animales con un Call Rate menor al 90% o con errores de pedigrí. Luego de este proceso se obtuvo 40,555

SNP efectivos autosómicos en la raza BON y 40,421 SNP efectivos autosómicos en la raza ROMO. Para el manejo, la edición y el control de calidad de los datos del genotipado (SNP) se utilizó el software PLINK v1.9 (Purcell et al. 2007) (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>), este programa permite generar un archivo de salida a partir del formato A/B top/top de Illumina, con los genotipos de cada SNP recodificados como 0, 1, o 2 copias del alelo B, que es compatible con los demás programas utilizados para los análisis genómicos.

**Imputación de genotipos:** dado que se utilizaron paneles de genotipado con diferente densidad de SNP, al combinar esta información en un único análisis se tienen grandes fracciones de genotipos faltantes por lo que fue necesario realizar un procedimiento estadístico que permite inferir o imputar SNPs del panel de mayor densidad (BovineSNP50\_v2) para los animales que fueron genotipados con una densidad menor (IlluminaSNP7K), para esto se usó el software FImpute (Sargolzaei et al. 2014) (<http://www.aps.uoguelph.ca/~msargol/fimpute/>), este software utiliza un algoritmo determinista basado en un método de ventana móvil superpuesta que hace uso de la información de desequilibrio de ligamiento entre marcadores dentro de la población y también de la información genealógica disponible, alcanzando tasas promedio de concordancia superiores al 94% (Piccoli et al. 2014), este proceso es muy importante dado que para llevar a cabo el GWAS se requieren que todos los animales tengan densidades de genotipado equivalentes (Piccoli et al. 2014). Al final del proceso de imputación todos los individuos tenían información de genotipos para 52,784 SNP.

**Estructura poblacional:** para evaluar la existencia de subestructura dentro de la población se utilizó un enfoque de agrupamientos por distancias pareadas basadas en el enfoque de identidad por estado utilizando la función *genome* del programa PLINK (Purcell et al. 2007), para el análisis multidimensional o análisis de componentes principales (PCA) se utilizó la matriz de distancias pareadas, y con la función de escalamiento multidimensional (MDS) y *cluster* del programa PLINK (Purcell et al. 2007), se generó un archivo con la información de las coordenadas de la ubicación de cada individuo dentro del plano (para cada dimensión). Cualquier evidencia de subestructura dentro de la población debería ser incorporada en la prueba de asociación genómica.

**Análisis de desequilibrio de ligamiento (LD):** el cuadrado del coeficiente de correlación entre dos loci ( $r^2$ ) se utilizó como la medida de LD en este estudio, indicando la capacidad

de los alelos presentes en un marcador para predecir los alelos de un segundo marcador ubicado a determinada distancia (Ke et al. 2004). El valor de  $r^2$  basado en las frecuencias de los genotipos de cada SNP, codificados como 0, 1, o 2 copias del alélelo B, fue calculado usando PLINK (Purcell et al. 2007) para todas las posibles combinaciones de pares de SNP separados por una distancia máxima de 200Kb, para evidenciar la tendencia en la caída del LD en cada raza se graficaron los valores promedio de  $r^2$  para ventanas de 1Kb.

**Modelo y computación:** para llevar a cabo el análisis de asociación se siguió la metodología de Single-step genomic association study (ssGWAS), que es un enfoque alternativo de análisis propuesto por Wang et al. (2012), basado en el método de *single-step genomic-BLUP* (ssBLUP) (Aguilar et al. 2010; Misztal et al. 2013). Esta metodología ha sido empleada para GWAS por Dikmen et al. (2013), Wang et al. (2014), Fragomeni et al. (2014), Howard et al. (2015), Tiezzi et al. (2015) y Lemos et al. (2016). En ssGWAS los valores genómicos de cría (GEBVs) estimados a partir de la información genómica, fenotípica y de pedigrí, se utilizan para estimar el efecto de sustitución alélica y la varianza explicada por los marcadores incluidos en el análisis (SNP), la ventaja teórica de este método frente a los métodos tradicionales de GWAS (2-step, Bayes), es que ssGWAS utiliza toda la información fenotípica disponible, siempre y cuando se conozca el pedigrí o el efecto de los marcadores, es decir que permite incluir en el análisis información de animales genotipados y no genotipados, y se puede utilizar para cualquier modelo que permita obtener estimaciones BLUP de los valores genéticos (Wang et al. 2012; Wang et al. 2014).

**Single-step genomic association study (ssGWAS):** de acuerdo con Wang et al. (2012) el método de ssGWAS es una modificación del BLUP tradicional con la matriz de parentesco del numerador (matriz  $A^{-1}$ ) remplazada por la matriz  $H^{-1}$  (Aguilar et al. 2010), este método considera la varianza genética aditiva del parentesco entre los individuos combinando el pedigrí con la información genómica dentro de la matriz H (Legarra et al. 2009; Aguilar et al. 2010). La inversa de la matriz H se construye combinando la inversa de la matriz genómica derivada de los SNP (G) con la inversa de la matriz de parentesco del numerador derivada del pedigrí (A), tal como sigue:

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix}$$

donde  $A^{-1}_{22}$  es la inversa de la matriz de parentesco del numerador para los animales genotipados y  $G$  es una matriz de relaciones genómicas. La matriz  $G$  se construyó ponderando la contribución de cada marcador por su varianza esperada, de acuerdo con la metodología descrita por VanRaden (2008), con:

$$G=ZDZ'$$

donde  $D$  es una matriz diagonal cuyos elementos contienen la inversa de la varianza esperada de los marcadores  $D_{ii} = \frac{1}{m[2p_i(1-p_i)]}$ ,  $Z$  es la matriz de incidencia de marcadores que contiene los genotipos recodificados (0, 1 o 2), corregida por la frecuencia de los alelos. La matriz  $H^{-1}$  fue sustituida en la ecuación del modelo mixto.

**Cálculos:** para el análisis de asociación por cada raza se aplicó un modelo animal con efectos fijos de sexo, año, familia y época de nacimiento y efectos aleatorios para el componente animal aditivo y ambiente permanente materno (solamente para PN y PD), y el efecto del  $SNP_i$  fijado como una covariable, para esto se ajustó el siguiente modelo lineal mixto:

$$Y = 1\mu + X\beta + Z_a a + e$$

donde  $Y$  es un vector de observaciones para la característica de crecimiento a evaluar,  $1$  es un vector para todos igual,  $\mu$  es el promedio general para los registros fenotípicos,  $\beta$  es un vector de efectos fijos incluyendo el año de nacimiento, la época, la familia y el sexo,  $X$  es la correspondiente matriz de incidencia para los efectos fijos,  $a$  es un vector de efecto poligénico aleatorio del animal con  $\sim N(0, H\sigma_a^2)$ , donde  $H$  representa la matriz de relación aditiva que combina el pedigrí y la información genómica,  $Z_a$  representa la matriz de incidencia del efecto aditivo aleatorio del animal y  $e$  es un vector de efecto residual aleatorio con  $\sim N(0, I\sigma_e^2)$ . La estructura varianza-covarianza de los efectos genéticos aditivos será  $\text{Var}(\text{animal}) = H\sigma_a^2$ , donde  $H$  es una matriz de relaciones genómicas aditivas entre los individuos construida a partir de la información de los SNP junto con el pedigrí y  $\sigma_a^2$  es la varianza genética aditiva.

Los componentes de (Co)varianza para cada característica fueron estimados por máxima verosimilitud restringida (REML) (Thompson and Mäntysaari 1999) utilizando el módulo AIREMLF90, luego para estimar las soluciones de los efectos fijos y aleatorios (GEBV) se corrió un single-step genomic BLUP (ssGBLUP) (Misztal et al. 2009; Aguilar et al. 2010). Todos los análisis para REML, BLUP and ssGWAS fueron realizados usando programas

incluidos en el software BLUPF90 (Miszta et al. 2002; Aguilar et al. 2011). BLUPF90 es una colección de programas basados en Fortran 90/95 diseñados para realizar cálculos de modelos mixtos en mejoramiento animal, que incluye los programas PREGSF90 y POSTGSF90, que son la interface que se pueden utilizar para procesar la información genómica obtenida usando los programas de la familia BLUPF90, PREGSF90 puede utilizarse para pre-procesar los datos del genotipado antes de la aplicación de la metodología de single-step (generar matriz de relaciones genómicas) (Legarra et al. 2009; Miszta et al. 2009), mientras que POSTGSF90 calcula y grafica el efecto de los SNP, como se describe en Wang et al. (2012). En este estudio se usó PREGSF90 y POSTGSF90 para realizar los análisis de ssGWAS para cada característica, siguiendo la metodología descrita por Wang et al. (2012), para lo cual, los valores genéticos (EBV) de los animales genotipados (GEBV) fueron convertidos a efectos de SNP y la significancia del efecto de cada SNP fue refinada de manera iterativa, siguiendo el procedimiento del escenario 1 descrito en Wang et al. (2012). La ecuación para predecir los efectos de los SNPs utilizando la matriz de relaciones genómicas ponderada, fue:

$$\hat{u} = DZ'[ZDZ']^{-1}\hat{a}_g$$

En la cual  $\hat{u}$  es el vector de efectos de marcadores SNP estimados, D es una matriz diagonal de significancia para las varianzas de efectos de SNP, Z es una matriz relacionada con los genotipos de cada locus para cada individuo, y  $\hat{a}_g$  es el efecto genético aditivo para los animales con genotipo.

La varianza individual para el efecto de cada SNP (la misma que en D) fue estimada como:

$$\hat{\sigma}_{u,i}^2 = \hat{u}_i^2 2p_i(1 - p_i)$$

En la cual  $\hat{u}_i^2$  es el cuadrado del efecto del  $i$ -ésimo SNP,  $p_i$  es la frecuencia alélica observada para el segundo alelo del  $i$ -ésimo marcador en la población actual. Cuando se utilizan ventanas de  $n$  SNPs adyacentes, como ocurre en este estudio; la varianza que se le atribuye a estas se calcula sumando la varianza de los  $n$  SNPs adyacentes, para cada SNP.

**Varianza genética explicada:** el porcentaje de varianza genética explicada por la  $i$ -ésima región fue calculada de la siguiente manera:

$$\frac{Var(a_i)}{a_a^2} \times 100\% = \frac{Var(\sum_{j=1}^4 Z_j \hat{u}_j)}{\sigma_a^2} \times 100\%$$

Donde  $a_i$  es el valor genético de la  $i$ -th región que consiste de  $n$  SNPs contiguos,  $\sigma_a^2$  es la varianza genética total,  $Z_j$  es un vector del contenido de genes del  $j$ -th SNP para todos los individuos, y  $\hat{u}_j$  es el efecto de marcador del  $j$ -th SNP dentro de la  $i$ -th región (Wang et al. 2012). Los archivos de soluciones para los SNP que indican el efecto de sustitución alélica y la varianza explicada por cada ventana de 4 SNPs contiguos fueron utilizados para construir gráficas Manhattan Plot usando el paquete qqman incluido en el programa R (Turner 2014).

**Mapeo de genes y análisis funcional In-Silico:** las regiones circundantes a los SNPs que resultaron significativos fueron inspeccionadas para la identificación de posibles QTLs 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 genoma *National Center for Biotechnology Information* (NCBI 2016) y *Ensembl Genome Browser* (Ensembl 2016). La base de datos AnimalQTLdb (2016) se usó para verificar la existencia de QTL asociados con características de crecimiento, 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 (2016) y de GeneCards® (2016), que se usaron para verificar la información funcional de los genes. Cuando no se encontró información disponible para genes *Bos taurus*, se usó 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 redes génicas (gene network) utilizando el recurso online de GeneMania (Warde-Farley et al. 2010), y un análisis de vías de enriquecimiento de genes mediante la Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) (Huang et al. 2009a; Huang et al. 2009b).

### 3.4 Resultados

La estadística descriptiva para las características evaluadas en las razas BON y ROMO se presenta en la Tabla 3-1, los valores promedio encontrados para PN, PD, P16m y P24m,

son muy similares entre las dos razas, registrando una variación fenotípica importante, que refleja la diversidad genética presente en estas poblaciones.

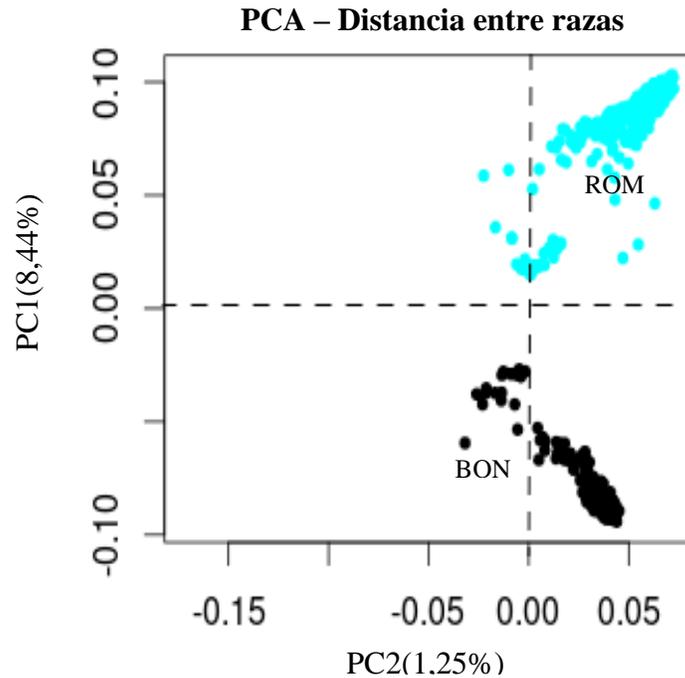
**Tabla 3-1:** Estadística descriptiva para las características de crecimiento evaluadas en las razas BON y ROMO.

Estadística	PN (kg)		PD (kg)		P16m (kg)		P24m (kg)	
	BON	ROMO	BON	ROMO	BON	ROMO	BON	ROMO
<i>Min</i>	19	20	91	59	103	94	119	152
<i>Max</i>	50	51	361	299	331	387	449	446
<i>Mean</i>	28±4	30±4	167±28	167±38	220±31	230±49	305±46	290±55
<i>N</i>	3842	4031	3366	3304	2919	2628	931	753

Un total de 54,609 SNPs incluidos en el Illumina BovineSNP50 BeadChip, fueron inicialmente evaluados para cada animal, luego del proceso de control de calidad, se obtuvo 39,552 SNP efectivos para la raza ROMO y 40,271 SNPs efectivos para la raza BON, finalmente luego del proceso de imputación, a todos los animales genotipados se les completo la información para 52,784 SNPs ubicados en cromosomas autosómicos, esta información se usó para realizar un análisis de subestructura poblacional a través de un PCA y también para evaluar el desequilibrio de ligamiento (LD) dentro de la población de estudio, finalmente la información genómica se combinó con la base de datos genealógicos y productivos para llevar a cabo el análisis de asociación.

Los resultados del PCA (Figura 3-1) muestran que el primer componente principal (PC) explica el 8,44% de la variación total y separa claramente la raza BON (negro) de la raza ROMO (azul), mientras que el segundo PC explica solamente el 1,25% de la varianza, la distribución espacial de los animales asignados a cada raza indica que son poblaciones genéticamente cercanas, que presentan una estructura genética definida, con poca dispersión dentro de cada raza, esto sugiere que la estratificación dentro de las poblaciones evaluadas es reducida.

**Figura 3-1:** Diagrama de componentes principales (PCA) sobre la base de los coeficientes de parentesco genómico entre individuos<sup>1</sup>.



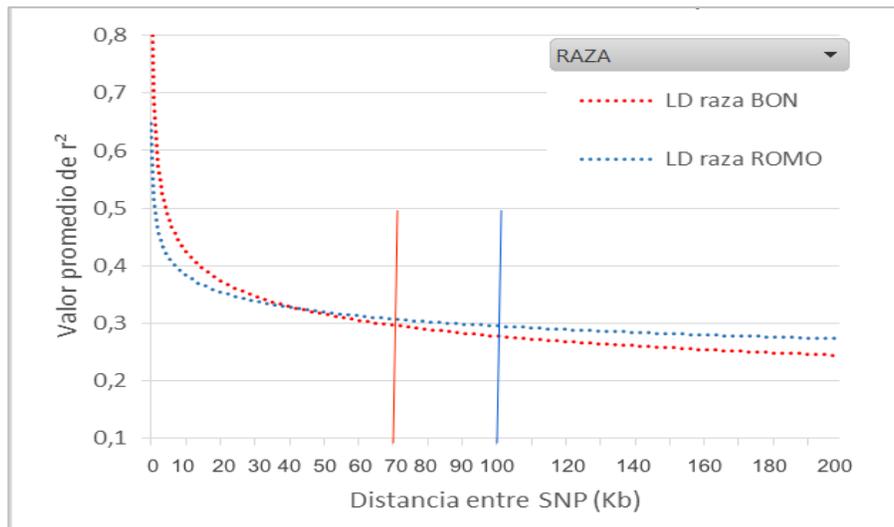
<sup>1</sup>Análisis de Componentes Principales derivado de la matriz de relaciones genómicas de identidad por estado (IBS) entre todos los animales de las dos razas estudiadas, mostrando los dos primeros componentes principales (PC) y la varianza explicada por cada componente entre paréntesis en el eje correspondiente.

En la Figura 3-2 se presenta la tasa promedio de caída del LD hasta una distancia de 200Kb para las dos razas evaluadas, estudios previos han definido que un adecuado nivel de LD se relaciona con valores de  $r^2 \geq 0,3$ , este es el nivel mínimo requerido para desarrollar estudios de asociación confiables (Kruglyak 1999; Ardlie et al. 2002), en este trabajo la raza ROMO presento un valor promedio de  $r^2$  igual a 0,3 a una distancia de 100Kb, mientras que la raza BON mostró una caída más rápida, alcanzando este mismo valor a una distancia de 70Kb (Figura 3-2). Estos resultados difieren de los valores promedio de caída de LD reportados para otras razas Taurinas, que por lo general alcanzan un  $r^2$  promedio de 0.3 a una distancia de 30 a 40Kb (Bolormaa et al. 2011b; Larmer et al. 2014; Pérez O'Brien et al. 2014a), estas diferencias posiblemente estén asociadas a la condición de población bajo conservación a la que pertenecen los animales evaluados en este estudio (Vásquez et al. 2007), lo cual se relaciona con un reducido tamaño efectivo de población.

De acuerdo con estos resultados, en la raza BON un adecuado nivel de LD ( $r^2 > 0,3$ ) implicaría distancias entre marcadores  $\leq 70\text{Kb}$  y distancias  $\leq 100\text{Kb}$  para la raza ROMO.

Dado que la distancia promedio entre marcadores reportada para el Chip de 50K, es de 49.4Kb (Illumina Inc. 2016), los niveles de LD encontrados en este estudio sugieren que al utilizar como plataforma de genotipado el Chip BovineSNP50K\_v2, es posible tener una adecuada cobertura a lo largo del genoma de estas razas Criollas, logrando capturar el efecto de la mayoría de QTL relacionados con rasgos de interés productivo, asegurando una adecuada capacidad de predicción en los análisis genómicos (GWAS, GS) (Meuwissen et al. 2001; Kizilkaya et al. 2010).

**Figura 3-2:** Caída del Desequilibrio de Ligamiento (LD) de 0 a 200 Kb en las razas BON y ROMO.



Caída del LD evaluada a través del valor promedio del cuadrado del coeficiente de correlación entre dos loci ( $r^2$ ) para ventanas de 1Kb, hasta una distancia máxima de 200 Kb.

El primer paso para llevar a cabo el GWAS es la estimación de componentes de varianza, que para este estudio fueron calculados a partir del BLUP tradicional sobre la base de todos los individuos incluidos en el conjunto de datos, en la Tabla 3-2 se presentan la varianza genética aditiva y la varianza residual para las características evaluadas en cada raza, junto con sus respectivos valores de heredabilidad. En términos generales se obtuvieron valores de heredabilidad media a alta para todas las características, con un valor mínimo de 0,24 en el P24m en la raza ROMO, y un valor máximo de 0,43 para PD en la raza BON, siendo superior la heredabilidad estimada para todas las características evaluadas en la raza BON (Tabla 3-2). Estas estimaciones son comparables a las reportadas para características similares en otras razas (Cañas et al. 2008; Baldi et al. 2010; Buzanskas et al. 2010; Gavioli et al. 2012; Ossa et al. 2014).

**Tabla 3-2:** Componentes de varianza y heredabilidad estimada para las características de crecimiento evaluadas en las razas BON y ROMO.

<b>Raza / rasgo</b>	<b>Varianza Genética</b>	<b>Varianza Residual</b>	<b>heredabilidad</b>
<i>BON PN</i>	5,4	7,6	0,42
<i>ROMO PN</i>	4,0	11,9	0,25
<i>BON PD</i>	5,7	7,6	0,43
<i>ROMO PD</i>	386,1	838,4	0,32
<i>BON P16m</i>	337,4	551,9	0,38
<i>ROMO P16m</i>	723,4	1235,0	0,37
<i>BON P24m</i>	514,8	1193,9	0,30
<i>ROMO P24m</i>	636,4	1994,8	0,24

Para determinar el grado de asociación entre los marcadores y las características evaluadas, se usó la metodología de ssGWAS, que fue propuesta por Wang et al. (2012), y está basada en el método de single-step genomic-BLUP (ssGBLUP) desarrollado por Aguilar y Misztal. En esta metodología, a diferencia de las metodologías tradicionales de asociación no se usa los valores de P-values para declarar regiones como significativas, en su lugar se puede utilizar los valores de sustitución alélica o también la proporción de varianza genética explicada por cada marcador o por ventanas de marcadores contiguos (Wang et al. 2012). Algunos autores han sugerido que los P-values son difíciles de definir y comparar usando pruebas de hipótesis clásicas basadas en estimadores reducidos tales como los valores genómicos de cría (GEBV) (Servin and Stephens 2007; Dikmen et al. 2013), estudios recientes también han encontrado que los métodos tradicionales de GWAS (P-values) a menudo producen un gran número (por ejemplo, cientos) de efectos significativos, la mayoría de los cuales no pueden ser validados en estudios posteriores (Ioannidis 2013).

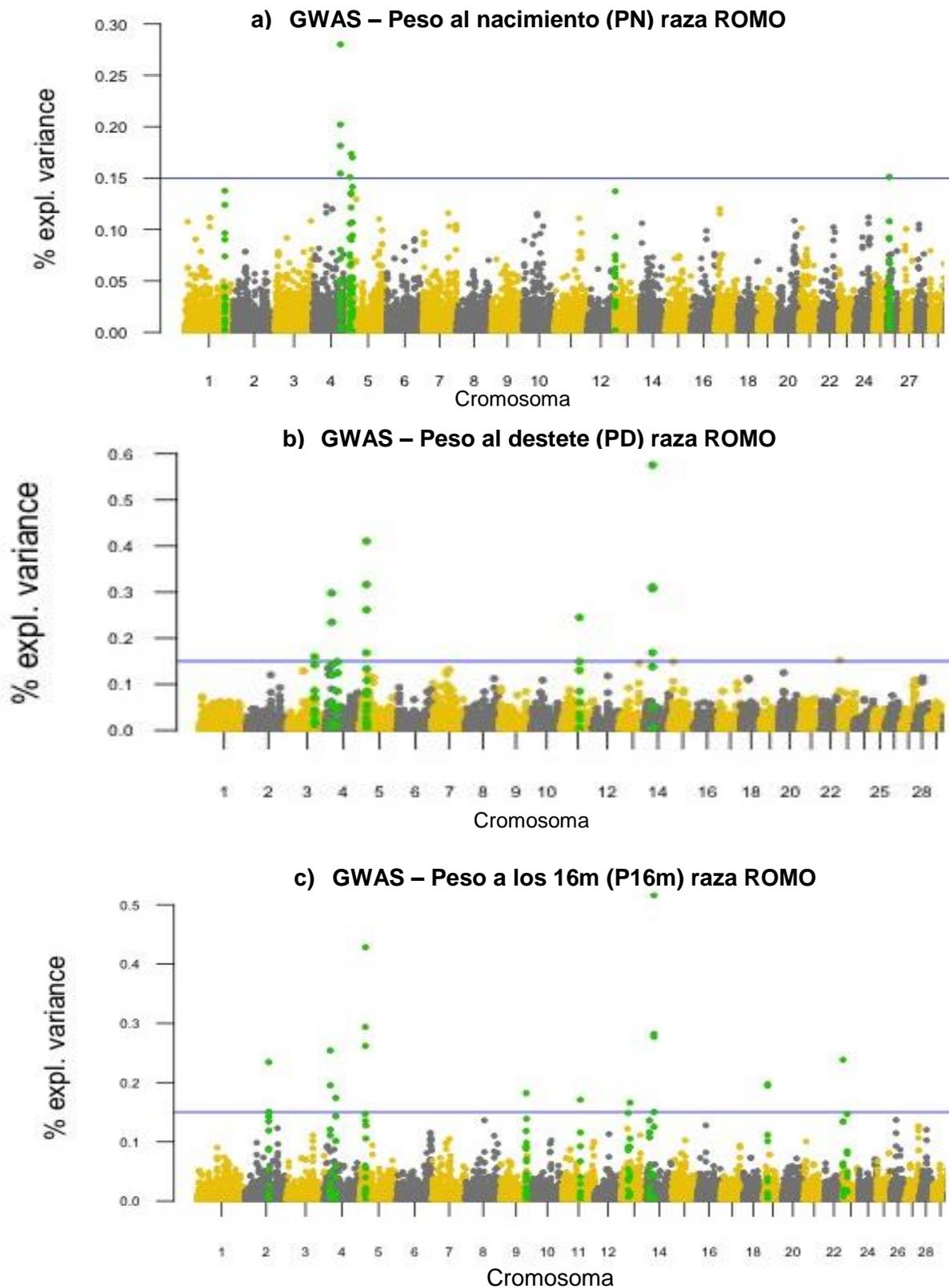
El principal objetivo de este estudio fue identificar regiones genómicas asociadas con la regulación del crecimiento, lo cual no depende de las pruebas de significancia estadística que son más apropiadas para los estudios basados en genes candidatos (Dikmen et al. 2013), mientras que el grado de asociación bajo la metodología de ssGWAS se define por la proporción de varianza genética explicada por los marcadores individuales o por regiones genómicas (Wang et al. 2012). En este estudio la varianza de cada SNP se expresó como el porcentaje de la varianza genética aditiva total explicada por cada SNP, y para mejorar la capacidad de diferenciar entre marcadores con grandes efectos y los que tienen efectos pequeños se definieron ventanas de 4 SNP adyacentes, la varianza explicada por estas

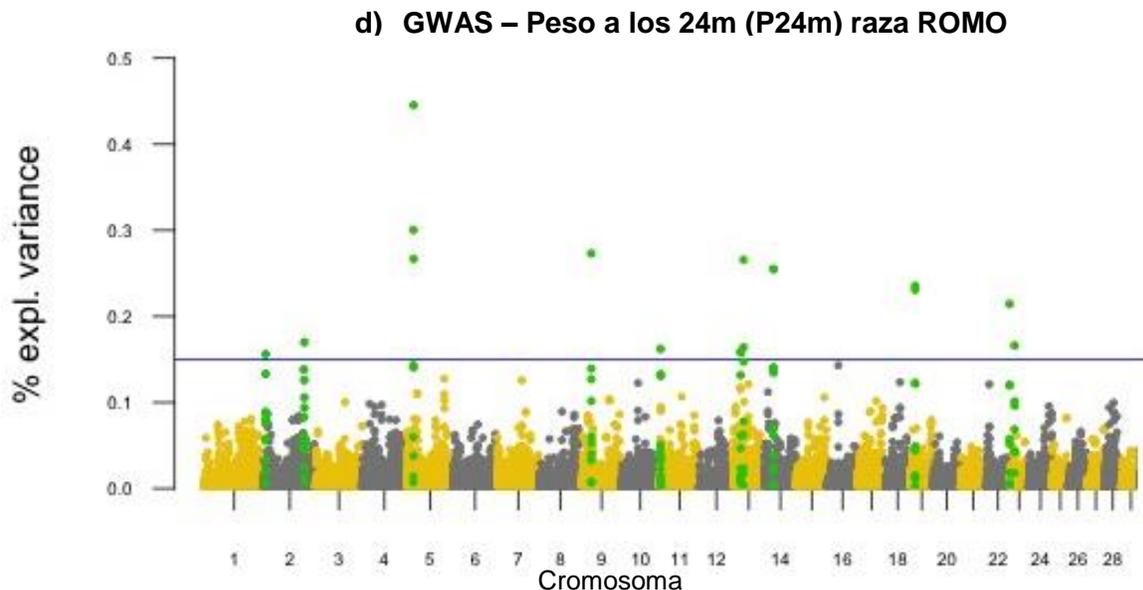
ventanas se usó para elaborar los Manhattan Plots. Para efecto de la identificación de QTL o regiones genómicas asociadas con las características evaluadas, se definió dos umbrales de acuerdo a la  $gVar(\%)$  explicada por las ventanas de 4-SNP adyacentes, aceptando como regiones con efecto moderado aquellas con una  $gVar(\%) \geq 0,1$  pero menor de 0,15 y regiones con efecto importante aquellas con una  $gVar(\%) \geq 0,15$ .

En las figuras 3-3 y 3-4 se muestra de manera gráfica la proporción de varianza genética ( $\%gVar$ ) explicada por ventanas de 4 SNPs contiguos dentro de un mismo cromosoma, basado en el método de ssGWAS, para las características de PN, PD, P16m y P24m en las razas ROMO y BON, respectivamente. Estas ventanas no presentan solapamientos ni son repetitivas (Wang et al. 2014). En los Manhattan Plots los cromosomas se diferencian por tonos y los SNPs se representan por puntos individuales, con una distribución espacial que depende de la  $gVar(\%)$  explicada por los 4 SNPs adyacentes que conforman cada ventana (Eje Y) y de la posición que ocupa el SNP en pares de bases (bp) dentro de cada cromosoma (Eje X).

En promedio, para las características evaluadas en las dos razas, se obtuvo 10,714 regiones (4 SNPs contiguos), con un tamaño promedio por región de  $140 \pm 94$  Kb y una distancia media entre regiones de  $93 \pm 87$  Kb (Tabla 3-3). Los detalles de las regiones y los SNPs de interés identificados en el análisis de asociación genómica son presentados en la Tablas 3-3 y el Anexo A. En términos generales, para PN en la raza ROMO se identificó 6 regiones de interés, que en su conjunto explican el 1,2% de la varianza genética ( $gVar$ ), estas regiones se encuentran ubicadas en los cromosomas BTA4 (91,12-91,23 Mb), BTA5 (2,09-2,20 Mb; 6,46-6,56 Mb; 10,51-10,67 Mb), BTA13 (8,22-8,36 Mb) y BTA26 (8,22-8,36 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-3 (a)), para esta misma característica en la raza BON se encontró 13 regiones significativas, que explican el 2,85% de la  $gVar$ , la mayoría de estas regiones están ubicadas en una misma área cromosómica dentro del BTA14 (8,11-8,25 Mb; 19,38-19,49 Mb; 21,34-21,46 Mb; 21,65-21,88 Mb; 23,81-23,95 Mb; 26,45-26,95 Mb; 27,23-27,33 Mb; 43,89-44,03 Mb), con algunas regiones individuales en el BTA3 (79,48-79,59 Mb), BTA5 (76,72-76,82 Mb; 80,50-80,67 Mb), BTA6 (82,48-82,61 Mb) y BTA26 (30,50-30,61 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-4 (a)).

**Figura 3-3:** Manhattan Plots del genome-wide association study (GWAS) para características de crecimiento en la raza ROMO1.





<sup>1</sup> El eje-X representa los cromosomas (29 autosomas), y el eje-Y muestra la proporción de varianza genética explicada por ventanas de 4 SNP adyacentes para las características de PN (a), PD (b), P16m (c) v P24m (d). Las regiones que explican una mayor proporción de varianza esta resaltadas.

Para la característica de PD en la raza ROMO se encontró 8 regiones con efecto significativo, que en su conjunto explican el 2,14% de la gVar, estas regiones se encuentran ubicadas en los siguientes cromosomas: BTA3 (87,80-87,91 Mb), BTA4 (20,39-20,51 Mb y 39,12-39,29 Mb), BTA5 (17,99-18,08 Mb), BTA11 (59,31-59,43 Mb), BTA14 (24,52-24,64 Mb), BTA15 (10,51-10,70 Mb) y el BTA23 (0,40-0,77 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-3 (b)), para esta misma característica, pero en la raza BON se identificó 4 regiones de interés, que en conjunto explican 0,81% de la gVar, y están ubicadas principalmente en el BTA6 (67,17-67,24 Mb), BTA14 (27,23-27,33 Mb), BTA23 (0,40-0,77 Mb) y BTA25 (40,40-40,56 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-4 (b)).

Para la característica de P16m el análisis de asociación genómica permitió identificar 13 regiones de interés en la raza ROMO, que en conjunto explican el 3,0% de la gVar, estas regiones están ubicadas en los siguientes cromosomas: BTA2 (78,30-78,41 Mb), BTA4 (20,39-20,51 Mb; 39,12-39,28 Mb), BTA5 (17,99-18,08 Mb), BTA9 (86,79-86,89 Mb; 87,68-87,85 Mb), BTA11 (59,31-59,43 Mb), BTA13 (22,06-22,21 Mb; 28,09-28,19 Mb), BTA14 (24,52-24,65 Mb), BTA19 (14,92-15,06 Mb) y BTA23 (0,40-0,77 Mb; 14,17-14,25 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-3 (c)), para esta misma característica pero en la raza BON se encontró 9 regiones significativas, que explican el 1,65% de la gVar, y están ubicadas en los siguientes cromosomas: BTA4 (92,05-92,18 Mb), BTA5 (57,95-58,29 Mb), BTA11

(70,83-71,09 Mb), BTA14 (11,73-11,85 Mb; 27,23-27,33 Mb; 50,97-51,05 Mb), BTA20 (34,31-34,39 Mb), BTA23 (0,40-0,77 Mb) y BTA25 (27,84-27,95 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-4 (c)).

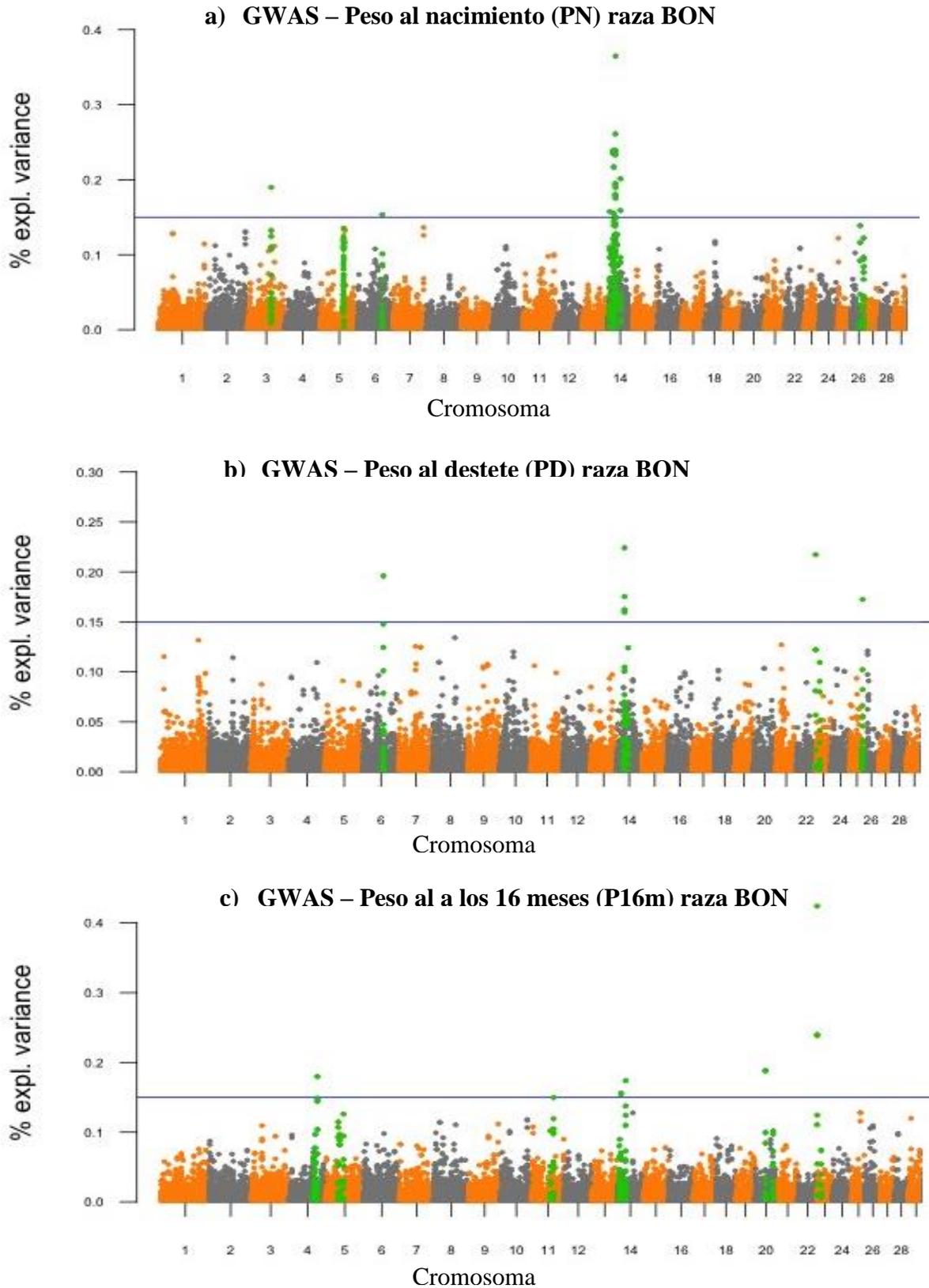
**Tabla 3-3:** Ventanas de 4 SNP adyacentes obtenidas en el GWAS para las cuatro características evaluadas en las razas ROMO y BON.

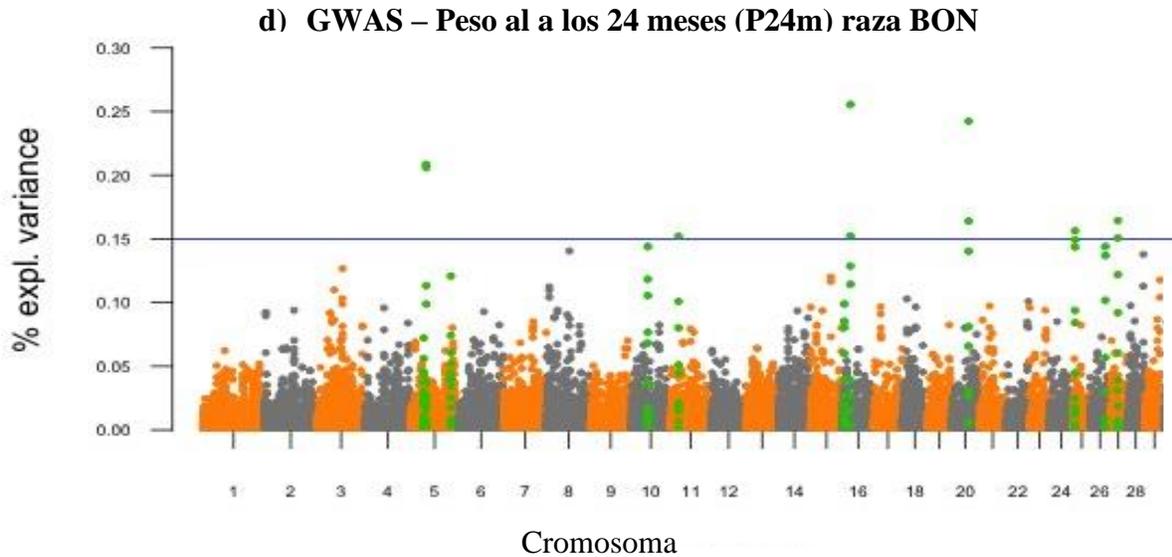
<b>Rasgo</b>	<b>Raza</b>	<b># ventanas<sup>1</sup></b>	<b>Tamaño<sup>2</sup> (Kb)</b>	<b>Distancia<sup>3</sup> (Kb)</b>	<b>Regiones<sup>4</sup></b>	<b>%gVar [ ]<sup>5</sup></b>
<i>PN</i>	ROMO	10697			6	1,20
	BON	10694			13	2,85
<i>PD</i>	ROMO	10708	$\bar{X}=140 \pm 94$	$\bar{X}= 93 \pm 87$	8	2,14
	BON	10701			4	0,81
<i>P16m</i>	ROMO	10717	Min = 22	Min = 0,075	13	3,00
	BON	10703	Max = 3500	Max = 3130	9	1,65
<i>P24m</i>	ROMO	10825			12	2,60
	BON	10663			8	1,50

<sup>1</sup>Cantidad de ventanas que consisten de 4 SNP contiguos, <sup>2</sup>Longitud promedio en Kb para las ventanas generadas, <sup>3</sup>Distancia promedio (Kb) entre ventanas, <sup>4</sup>Cantidad de regiones que explican una proporción de la gVar  $\geq 0,15$ , <sup>5</sup>Proporción de gVar explicada por todas las regiones de interés.

Para la característica de P24m el análisis de asociación genómica permitió identificar 12 regiones con efecto significativo en la raza ROMO, que explican en conjunto el 2,6% de la gVar, estas regiones están ubicadas en los siguientes cromosomas, BTA2 (4,12-4,24 Mb; 108,79-108,87 Mb), BTA5 (17,99-18,08 Mb), BTA9 (24,94-25,97 Mb), BTA11 (2,10-2,20 Mb), BTA13 (19,93-20,02 Mb; 28,09-28,19 Mb), BTA14 (24,52-24,65 Mb), BTA16 (29,60-29,69 Mb), BTA19 (15,00-15,11 Mb) y BTA23 (0,40-0,77 Mb; 14,17-14,25 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-3 (d)), para esta misma característica en la raza BON el análisis de asociación permitió identificar 8 regiones con efecto importante, que explican en conjunto el 1,5% de la gVar, y están ubicadas en los siguientes cromosomas: BTA5 (40,51-40,59 Mb), BTA10 (44,36-44,49 Mb), BTA11 (20,78-20,90 Mb), BTA16 (20,05-20,13 Mb), BTA20 (44,45-44,55 Mb), BTA25 (3,62-3,70 Mb), BTA26 (39,90-39,40 Mb) y BTA27 (21,46-2,58 Mb) (regiones resaltadas Figura 3-4 (d)).

**Figura 3-4:** Manhattan Plots del genome-wide association study (GWAS) para características de crecimiento en la raza BON1.





<sup>1</sup>El eje-X representa los cromosomas (29 autosomas), y el eje-Y muestra la proporción de varianza genética explicada por ventanas de 4 SNP adyacentes para las características de PN (a), PD (b), P16m (c) y P24m (d). Las regiones que explican una mayor proporción de varianza esta resaltadas en verde.

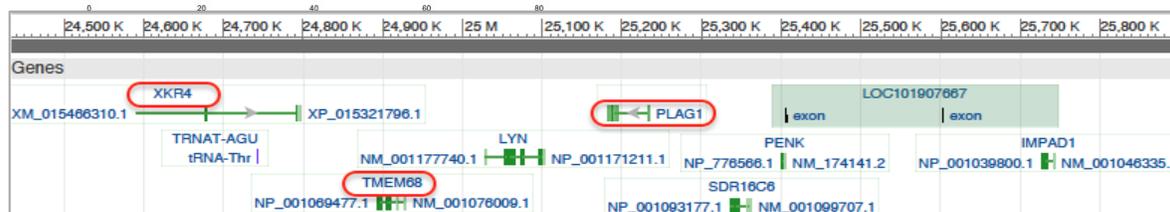
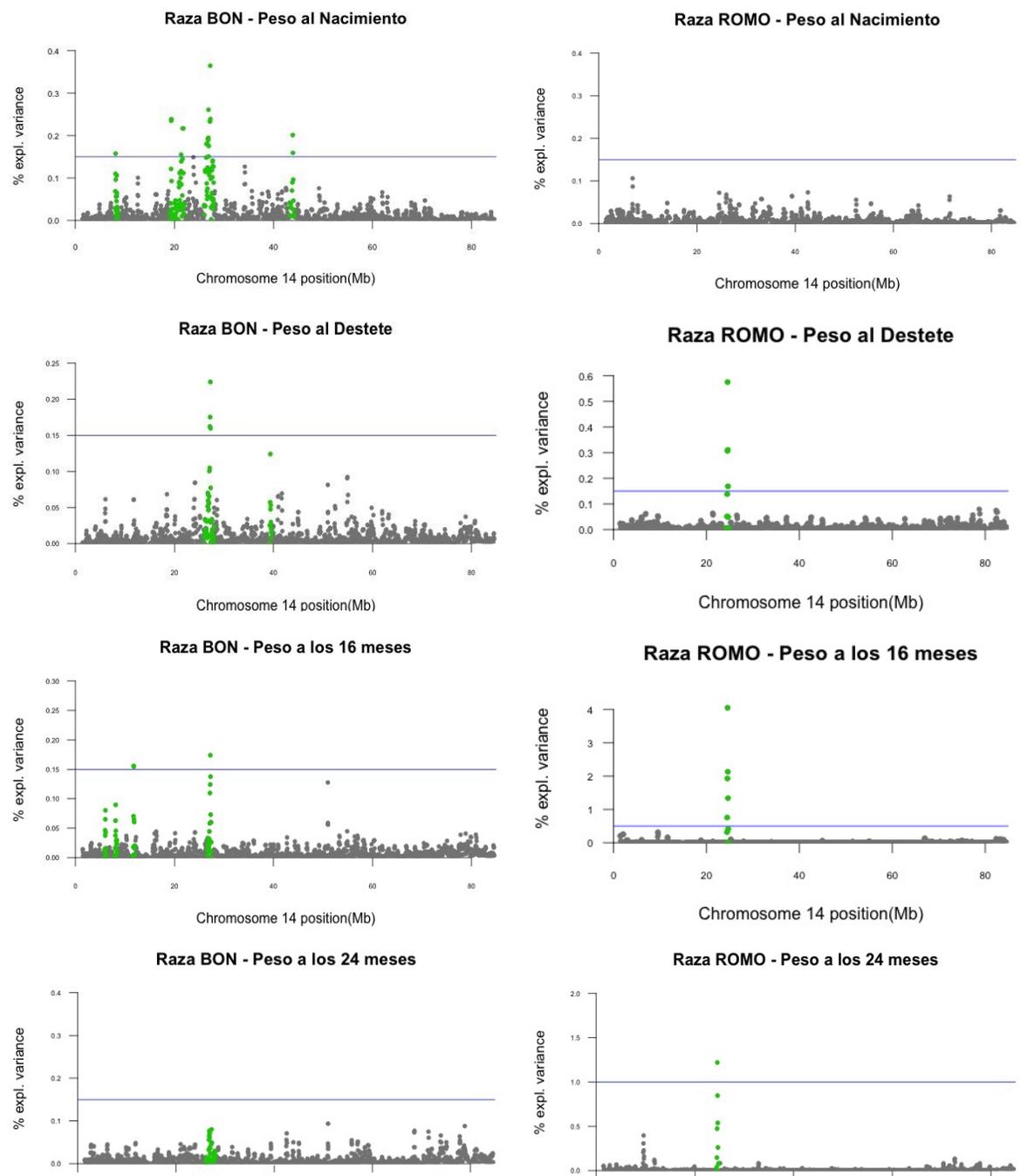
Algunas de las regiones de interés identificadas en este estudio están asociadas de manera simultánea con dos o más características en la misma raza o en algunos casos son comunes para las dos razas. La presencia de regiones cromosómicas con efecto simultaneo para varias características fue más frecuente en la raza ROMO (Tabla 3-4), por ejemplo, en el BTA4 de esta raza se identificó dos regiones asociadas de manera simultánea con PD y P16m, la primera región (20,39-20,51 Mb) explica el 0,3% y 0,25% de la gVar de estas dos características respectivamente, mientras que la segunda región (39,12-39,29 Mb) explica el 0,15% de la gVar del PD y el 0,17% de la gVar del P16m. También en el cromosoma 5 de esta raza, se encontró una región (17,99-18,08 Mb) con efecto común para PD (0,43% gVar), P16m (0,45% gVar) y P24m (0,41% gVar). Algo similar se encontró en los cromosomas 11 y 13, con una región en el BTA11 (59,31-59,43 Mb) que tiene efecto común para PD (0,24% gVar) y P16m (0,17% gVar), y una región en el BTA13 (28,09-28,19 Mb) que se encontró asociada de manera simultánea con P16m (0,17% gVar) y P24m (0,27% gVar).

Particularmente, los cromosomas 14 y 23 presentan las regiones de mayor interés en este estudio, con regiones comunes para varias de las características evaluadas, que son consistentes entre las dos razas. En el caso de la raza BON, es interesante la existencia de 8 regiones asociadas con PN en el chr14, ubicadas muy cerca una de otra y distribuidas en una región cromosómica que va de 19,3 hasta 27,3 Mb, dentro de esta región existe una

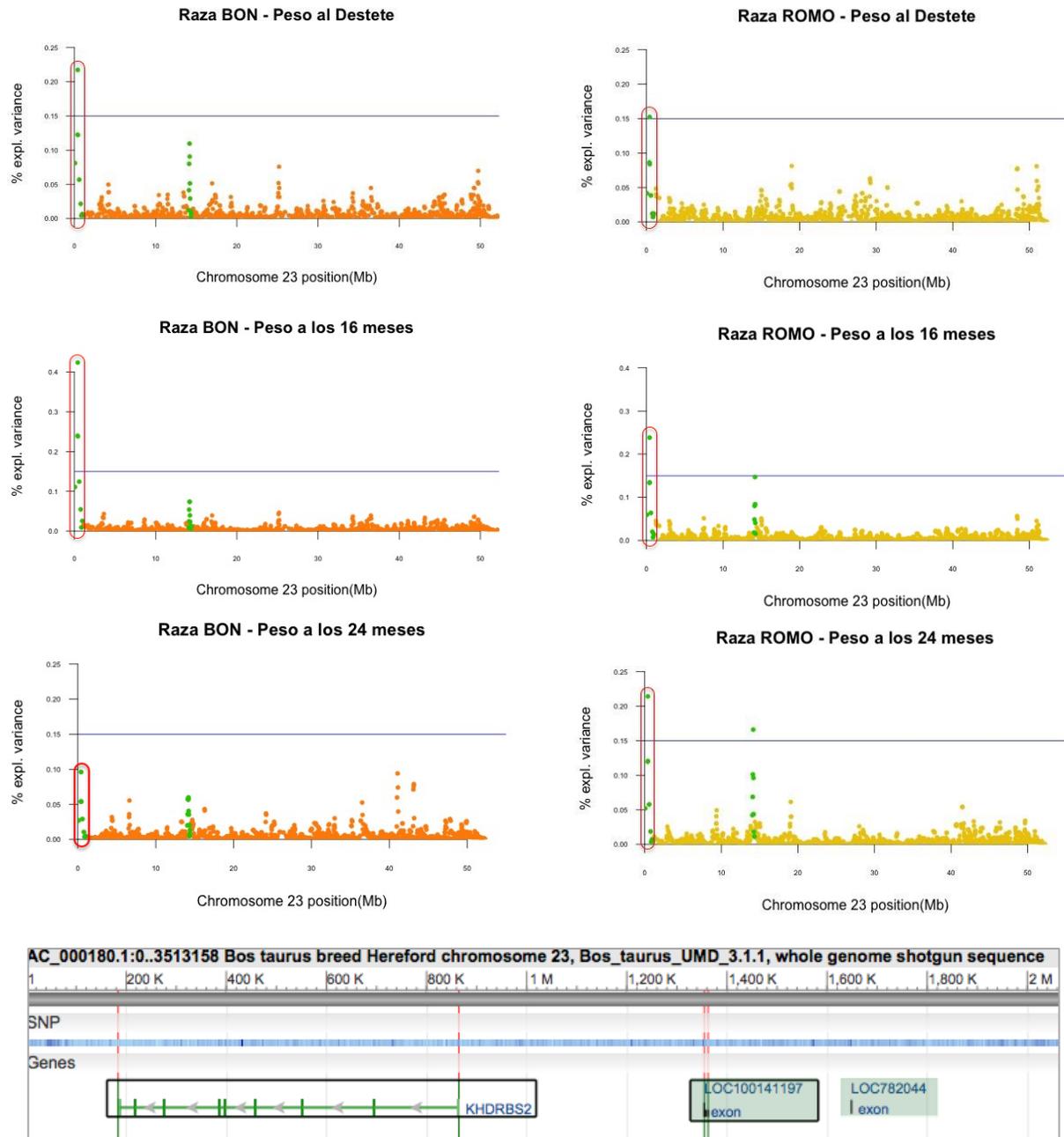
zona de mayor interés para la raza BON (27,23 - 27,33 Mb), que presentó una asociación importante con PN (0,37% gVar), PD (0,22% gVar) y P16m (0,15% gVar), con una asociación moderada para P24m (0,1% gVar), relativamente cerca de esta región se encontró una segunda región de interés (24,52 - 24,65 Mb), que presenta una asociación importante con los rasgos evaluados en la raza ROMO, principalmente PD (0,57% gVar), P16m (0,52% gVar) y P24m (0,25% gVar) (Figura 3-5), siendo una región cromosómica importante para las dos razas. Si bien, en la raza BON el BTA14 presentó varias regiones con efecto importante sobre la variación fenotípica del PN, no ocurre lo mismo en la raza ROMO, pues en el BTA14 de esta raza no se identificó regiones con efecto importante para esta característica.

También en el cromosoma 23, existe una región de interés (0,44 - 0,77 Mb), que presenta un efecto importante sobre la variación genética de características evaluadas en las dos razas, en el caso de la raza ROMO, esta región se encontró asociada con PD (0,15% gVar), P16m (0,24 gVar) y P24m (0,21% gVar), mientras que en la raza BON la misma región presentó un efecto importante sobre PD (0,22% gVar) y P16m (0,42% gVar), y un efecto moderado para P24m (0,10 % gVar) (Figura 3-6). En este mismo cromosoma se encontró otra región importante (14,17 - 14,25 Mb), que está asociada de manera simultánea con P16m (0,15% gVar) y P24m (0,16% gVar) en la raza ROMO (Figura 3-6).

**Figura 3-5:** Regiones de interés identificadas en el BTA14<sup>1</sup>.



<sup>1</sup>Regiones del BTA14 con efecto común para características de PN, PD, P16m y P24m en las razas BON y ROMO. Estas regiones coinciden con algunos genes candidatos como PLAG1, XKR4 y TMEM68.

**Figura 3-6:** Regiones de interés identificadas en el BTA23<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Se encontró una región importante en la parte inicial del BTA23 (área resaltada) con efecto común para características de PD, P16m y P24m en las razas BON y ROMO. Esta región coinciden con la ubicación del gen *KHDRBS2*, que codifica para una proteína que es altamente expresada en el músculo esquelético y cardíaco, relacionada con la propagación y la migración de mioblastos, y con la señalización hipertrófica en el musculo cardíaco (Robinson et al. 2003).

**Tabla 3-4:** Regiones genómicas asociadas con características de crecimiento en ganado BON y ROMO, y posibles genes candidatos (PGC) posicionales identificados

<b>Rasgo</b>	<b>Raza</b>	<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>% gVar<sup>1</sup></b>	<b>SNP mas importante<sup>2</sup></b>	<b>Efecto<sup>3</sup></b>	<b>PGC<sup>4</sup></b>
<i>PN</i>	BON	3	79,48 - 79,58	0,19	ARS-BFGL-NGS-31953	4,3	LEPR
		5	76,72 - 76,81	0,14	Hapmap54557-rs29012924	3,0	SYT10
		5	80,50 - 80,66	0,14	ARS-BFGL-NGS-70834	4,6	-. <sup>5</sup>
		6	82,48 - 82,61	0,15	Hapmap27308-BTC-043338	3,8	-
		14	08,11 - 08,24	0,16	Hapmap31989-BTC-062364	3,7	ZFAT, TG
		14	19,38 - 19,49	0,24	BTA-75794-no-rs	4,8	-
		14	21,34 - 21,45	0,16	ARS-BFGL-NGS-28234	4,3	PRKDC, MCM4, SNAI2
		14	21,66 - 21,87	0,22	Hapmap41993-BTA-86407	3,6	
		14	23,82 - 23,95	0,15	ARS-BFGL-BAC-8052	3,7	SOX17, LYPLA1
		14	26,45 - 26,54	0,18	Hapmap40958-BTA-34312	5,3	PLAG1
		14	26,71 - 26,84	0,18	Hapmap30932-BTC-011225	4,3	
		14	26,87 - 26,95	0,26	Hapmap23524-BTC-065402	2,5	
		14	27,23 - 27,32	0,36	Hapmap23255-BTC-073028	4,7	PKIA
		14	43,90 - 44,03	0,20	ARS-BFGL-BAC-21447	1,8	
		26	30,51 - 30,61	0,14	Hapmap43992-BTA-103071	1,4	-
	ROMO	4	91,13 - 91,23	0,28	BTB-01450748	4,0	LEP, GRM8
		5	02,10 - 02,19	0,15	BTA-101936-no-rs	2,4	TRHDE
		5	06,46 - 06,55	0,17	Hapmap38248-BTA-73843	4,7	CSRP2
		5	10,51 - 10,66	0,17	UA-IFASA-4222	2,3	Myf5, Myf6
		13	02,61 - 02,71	0,14	ARS-BFGL-NGS-2165	3,8	PAK7
		26	08,22 - 08,36	0,15	ARS-USMARC-Parent-DQ990834	4,7	PRKG1
<i>PD</i>	BON	6	67,17 - 67,24	0,20	BTA-110747-no-rs	2,2	GABRA4, GABRA1
		14	27,23 - 27,32	0,22	Hapmap23255-BTC-073028	3,3	PLAG1
		23	00,40 - 00,76	0,22	BTA-55427-no-rs	2,9	KHDRBS2 (SLIM1)
		25	40,41 - 40,55	0,17	ARS-BFGL-NGS-119457	3,5	-

<b>Rasgo</b>	<b>Raza</b>	<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>% gVar<sup>1</sup></b>	<b>SNP mas importante<sup>2</sup></b>	<b>Efecto<sup>3</sup></b>	<b>PGC<sup>4</sup></b>
<i>PD</i>	ROMO	3	87,81 - 87,90	0,16	ARS-BFGL-NGS-110127	3,4	MYSM1, TACSTD2, OMA1
		4	20,40 - 20,51	0,30	BTB-00168235	3,2	TMEM106B
		4	39,12 - 39,28	0,15	Hapmap24263-BTA-161141	2,2	HGF, CACNA2D1
		5	18,00 - 18,08	0,41	Hapmap45956-BTA-74297	3,8	KITLG, TMTC3
		11	59,31 - 59,42	0,24	Hapmap48543-BTA-98093	3,6	-
		14	24,52 - 24,64	0,58	BTB-01530788	5,2	XKR4, TMEM68, PLAG1
		15	10,51 - 10,70	0,15	BTB-00580688	2,5	-
		23	00,40 - 00,76	0,15	BTA-55427-no-rs	2,8	KHDRBS2 (SLM1)
<i>P16m</i>	BON	4	92,05 - 92,18	0,18	ARS-BFGL-NGS-113124	5,6	LEP, GRM8, PAX4
		5	57,95 - 58,28	0,13	ARS-BFGL-NGS-12487	7,8	ITGA7, STAT6
		11	70,83 - 71,09	0,15	Hapmap48562-BTA-102172	2,6	SPDYA, PPP1CB, FOSL2
		14	11,74 - 11,85	0,16	Hapmap36733-SCAFFOLD230838	0,6	TG
		14	27,23 - 27,32	0,17	Hapmap23255-BTC-073028	4,4	PLAG1
		14	50,98 - 51,05	0,13	BTA-113394-no-rs	4,6	TRPS1
		20	34,31 - 34,39	0,19	ARS-BFGL-NGS-32425	6,0	GHR
		23	00,40 - 00,76	0,42	BTA-55427-no-rs	6,9	KHDRBS2 (SLM1)
		25	27,85 - 27,95	0,13	Hapmap44260-BTA-59780	12,1	PHKG1, SLC5A2
<i>P16m</i>	ROMO	2	78,30 - 78,41	0,23	Hapmap26185-BTA-157573	3,1	-
		4	20,40 - 20,51	0,25	BTB-00168235	3,2	TMEM106B
		4	39,12 - 39,28	0,17	Hapmap24263-BTA-161141	2,7	HGF, CACNA2D1
		5	18,00 - 18,08	0,43	Hapmap45956-BTA-74297	4,0	KITLG, TMTC3
		9	86,79 - 86,88	0,18	ARS-BFGL-NGS-15259	3,8	-
		9	87,69 - 87,84	0,14	BTA-56214-no-rs	4,1	-
		11	59,31 - 59,42	0,17	Hapmap48543-BTA-98093	3,0	-
		13	22,06 - 22,21	0,15	BTA-24452-no-rs	3,4	PNR1
		13	28,09 - 28,19	0,17	ARS-BFGL-NGS-56660	2,4	MCM10, UCMA

<b>Rasgo</b>	<b>Raza</b>	<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>% gVar<sup>1</sup></b>	<b>SNP mas importante<sup>2</sup></b>	<b>Efecto<sup>3</sup></b>	<b>PGC<sup>4</sup></b>
<i>P16m</i>	ROMO	14	24,52 - 24,64	0,52	BTB-01530788	4,9	XKR4, TMEM68, PLAG1
		19	14,92 - 15,06	0,20	Hapmap40357-BTA-46514	3,8	Gas2L2
		23	00,40 - 00,76	0,24	BTA-55427-no-rs	3,5	KHDRBS2 (SLM1)
		23	14,17 - 14,25	0,15	ARS-BFGL-NGS-118763	2,5	-
<i>P24m</i>	BON	5	40,51 - 40,58	0,21	ARS-BFGL-NGS-65543	9,0	CNTN1
		10	44,36 - 44,48	0,14	Hapmap48648-BTA-120966	2,8	GNG2
		11	20,78 - 20,90	0,15	ARS-BFGL-NGS-113920	5,5	-
		16	20,05 - 20,13	0,26	Hapmap60631-rs29014612	6,1	-
		20	44,45 - 44,55	0,24	BTB-00784875	5,6	-
		25	03,62 - 03,70	0,16	Hapmap22899-BTC-018001	17,4	MGRN1
		26	39,90 - 39,99	0,14	ARS-BFGL-NGS-17213	2,1	GRK5, RGS10
		27	21,47 - 21,58	0,16	ARS-BFGL-NGS-20681	6,4	SGCZ
	ROMO	2	04,13 - 04,24	0,16	ARS-BFGL-NGS-112731	3,2	MSTN
		2	108,79 - 108,87	0,17	ARS-BFGL-NGS-117879	5,1	IGFBP2, IGFBP5
		5	18,00 - 18,08	0,45	Hapmap45956-BTA-74297	4,1	KITLG, TMTC3
		9	24,94 - 25,06	0,27	BTB-00385217	5,3	-
		11	02,11 - 02,20	0,16	ARS-BFGL-NGS-114980	5,1	ENSBTAG00000011553
		13	19,94 - 20,01	0,16	ARS-BFGL-NGS-118304	4,8	NPR1
13		28,10 - 28,18	0,27	ARS-BFGL-NGS-56660	3,2	MCM10, UCMA	
14		24,52 - 24,64	0,25	BTB-01530788	3,6	XKR4, TMEM68, PLAG1	
16		29,60 - 29,69	0,14	Hapmap42196-BTA-38351	2,4	-	
19		15,00 - 15,11	0,24	Hapmap40357-BTA-46514	4,1	Gas2L2	
23		00,40 - 00,76	0,21	BTA-55427-no-rs	3,3	KHDRBS2 (SLM1)	
23		14,17 - 14,25	0,17	ARS-BFGL-NGS-118763	2,6	-	

<sup>1</sup>Varianza explicada por cada ventana de 4 SNP contiguos. <sup>2</sup>SNP mas importante contenido dentro de cada ventana, seleccionado por la varianza explicada y por su <sup>3</sup>efecto de sustitución alélica. <sup>4</sup>Posible gen candidato posicional y funcional. <sup>5</sup>Anotaciones de genes con función desconocida o no relacionada con las características evaluadas.

### 3.5 Discusión

De manera general la  $gVar(\%)$  explicada tanto por los SNP individuales como por las ventanas de 4 SNP contiguos, presenta un orden de magnitud inferior a otros reportes de la literatura (Schopen et al. 2011; Peters et al. 2012; Lee et al. 2013b), lo cual se puede explicar por diferencias en la metodología de análisis utilizada, dado que metodologías como la de BayesB distribuye la varianza genética en una porción del total de SNPs utilizados (por ejemplo 10%), mientras que el método de ssGWAS particiona la varianza genética entre todos los SNPs incluidos en el análisis, por lo tanto, en ssGWAS se tiene un mayor número de SNPs para distribuir la misma cantidad de variación genética (Wang et al. 2014), el otro factor que influye en la magnitud de la  $gV(\%)$  explicada es el tamaño de la ventana de SNPs adyacentes, a mayor tamaño mayor  $gV(\%)$  explicada, sin embargo tamaños de ventana muy grandes afecta la confiabilidad de los análisis, reduciendo la capacidad de identificar QTL o regiones genómicas con efecto significativo, y puede llevar a incrementar la ocurrencia de falsos positivos (Wang et al. 2012; Dikmen et al. 2013).

En este estudio se comparó ventanas de diferente tamaño, con 4, 10 y 20 SNPs contiguos, encontrando que ventanas de 4 y 10 SNP, son consistentes con la cantidad y la posición de las regiones con efecto importante, manteniendo valores de  $gVar(\%)$  explicada muy similares, mientras que para una ventana de 20 SNP contiguos, si bien la  $gVar(\%)$  explicada es mayor, también se incrementa la cantidad de regiones con efecto significativo, lo que puede llevar a declarar falsos positivos como QTLs asociados a las características evaluadas. Dependiendo de la densidad de marcadores utilizada, ventanas de análisis conformadas por un número grande de SNP (>10 SNP) cubren una área genómica demasiado grande, lo que puede llevar a declarar regiones significativas que no están en LD con la mutación o el gen causal, por lo general el efecto de este tipo de regiones (QTL) se pierde en las siguientes generaciones, como se puede evidenciar en un estudio realizado por Fragomeni et al. (2014), ellos encontraron que la mayor parte de las ventanas (20 SNP) que explicaban una proporción importante de la varianza genética de los rasgos evaluados, no se mantienen, cambian a través de las generaciones, esto se puede atribuir en parte al tamaño de ventana utilizado, sin embargo se requieren estudios adicionales para corroborar esta posible asociación. También Wang et al. (2012) encontró en un estudio de simulación que la correlación de la detección de QTL con respecto a la suma de SNPs adyacentes

aumentó hasta 8 SNP, y después disminuyó a medida que se aumentaba la cantidad de SNP, esto se debe a que no siempre el SNP más cercano a un QTL es el mejor predictor de su efecto (Zondervan and Cardon 2004).

Dikmen et al. (2013) realizó un GWAS basado en la metodología de  $ss$ GBLUP y comparó los resultados obtenidos con ventanas de 2, 3, 4, 5, y 10 SNP adyacentes, encontrando que ventanas de 2-SNP dan lugar a efectos de marcadores más suaves, que no permiten diferenciar entre marcadores con grandes efectos y los que tienen efectos pequeños, mientras que los Manhattan Plots para ventanas de 3 y 5 SNP presentan patrones más claros, con regiones bien definidas y en general consistentes, los resultados fueron similares para ventanas de 4-SNP. Si bien en el estudio de Dikmen et al. (2013) los resultados para ventanas de 10-SNP fueron muy similares a los resultados encontrados al usar ventanas estrechas, el análisis con ventanas de 10 o más SNP plantea problemas de carácter técnico, debido a que el Illumina BovineSNP50 BeadChip tiene una separación media de 49,4 kb entre marcadores, al usar 10 SNP cada punto del Manhattan Plot resultante cubre en promedio de 494 kb, y teniendo en cuenta que por lo general el LD en bovinos alcanza menos de 100 kb (Sargolzaei et al. 2008), en una región de 494 kb podrían existir genes o grupos de genes que no están en LD, por lo tanto no segregan conjuntamente, si estos genes tiene grandes efectos deberían ser representados por picos separados, utilizando ventanas de menor tamaño.

**Identificación y análisis de genes candidatos:** la información de QTLs reportados previamente en las regiones de interés identificadas en este estudio, se obtuvo de la base de datos AnimalQTLdb (2016), la mayoría de las 54 regiones de interés, que explican una proporción importante de la gVar para alguna de las características de crecimiento evaluadas en las dos razas, coinciden con la ubicación de QTLs reportados en estudios anteriores, que en su mayoría están asociados con rasgos de crecimiento, desarrollo y eficiencia alimenticia en diferentes razas bovinas (ver Anexo A), solamente 12 de las 54 regiones se encuentran en áreas cromosómicas que hasta el momento no han sido asociadas con ningún QTL de interés.

Por su parte, la evaluación del contenido de genes y transcritos presentes en las regiones de interés identificadas en este estudio se basa en el conjunto de anotaciones reportadas en el UMD3.1 Bovine genome assembly (Liu et al. 2009; Zimin et al. 2009), usando las bases de datos del genoma National Center for Biotechnology Information (NCBI 2016) y

Ensembl Genome Browser (Ensembl 2016), el análisis funcional de los genes mapeados se realizó por medio de los sitios web de UniProt (2016) y GeneCards® (2016), que se usaron para verificar la información funcional de los genes de interés. Luego de realizar el mapeo de genes para todas las regiones de interés identificadas en las dos razas (Figura 3-3 y Figura 3-4), se encontró anotaciones para 173 genes (Anexo A), algunos con funciones conocidas y otros aun no caracterizados, que incluyen 53 posibles genes candidatos posicionales que reportan algún tipo de función relacionada de manera directa o indirecta con la regulación del crecimiento en animales (Tabla 3-4).

El análisis funcional para genes candidatos (Tabla 3-4), indica que en el genoma de estas razas Criollas existe regiones de interés asociadas con genes importantes relacionados con el crecimiento en *Bos Taurus*, como MSTN (Myostatin), IGFBP2 y IGFBP5 (proteínas de unión a IGFs), LEPR (receptor de la leptina), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), LEP (leptina), Myf5 (*myogenic factor 5*), TG (Tiroglobulina) y PLAG1 (*zinc finger*) (Tabla 3-4), además de otros 44 posibles genes candidatos con funciones análogas reportadas en otras especies (*Homo Sapiens* y *Mus Musculu*) (Tabla 3-4, Anexo A), que participan en diferentes procesos biológicos relacionados con la replicación, diferenciación y proliferación celular (MYSM1, CSRP2, SPDYA, PPP1CB, FOSL2, MCM10, ZFAT, PRKDC, MCM4, SNAI2, PRKG1), también genes que participan en diferentes sistemas de señalización (GRM8, KITLG, TMTC3, CNTN1, SYT10, GABRA4 y GABRA1, GNG2, PAK7, PKIA, GRK5, RGS10), otros genes relacionados con la regulación de la homeostasis energética, metabolismo y deposición de lípidos (OMA1, PAX4, TRHDE, STAT6, LYPLA1, XKR4, TMEM68, MGRN1, PHKG1, SLC5A2) y algunos genes relacionados con el crecimiento de diferentes tejidos y órganos (TACSTD2, TMEM106B, CACNA2D1, ITGA7, ENSBTAG00000011553, NPR1, UCMA, SOX17, TRPS1, Gas2L2, KHDRBS2). A continuación, se hace una descripción de las funciones asociadas a algunos de los genes de mayor relevancia, ubicados dentro o cerca de las regiones genómicas de interés identificadas en este estudio.

En el BTA2 de la raza ROMO se identificó una región (2: 4,12-4,24 Mb) asociada con P24m (0,16% gVar), que se encuentra a 1,97 Mb en dirección 3' del gen MSTN (Myostatin) (2: 6,21-6,22 Mb), se ha demostrado que el gen de la Miostatina, también llamado factor 8 de crecimiento y diferenciación, es un regulador negativo del crecimiento del músculo (McPherron et al. 1997; Thomas et al. 2000). En este mismo cromosoma y para la misma

raza se encontró una segunda región (2: 108,79-108,87 Mb) asociada con P24m (0,17% gVar), en esta región Bolormaa et al. (2011b) encontró 3 SNP (2: 109 Mb) con efecto significativo para consumo residual de alimento, promedio de ganancia diaria y consumo de alimento diario en razas de carne, esta región está ubicada relativamente cerca de dos genes importantes, el gen IGFBP2 (2: 105,33-105,37 Mb) y el gen IGFBP5 (2: 105,37-105,39 Mb), que corresponden a las proteínas dos y cinco de unión a IGFs (IGFBP-*Insulin-like growth factor binding protein*), la biodisponibilidad de IGFs, está regulada por este tipo de proteínas (Jones and Clemmons 1995; Clempson et al. 2012).

En el BTA3 de la raza BON se encontró una región (3: 79,48-79,58 Mb) asociada con PN (0,19 gVar%), que está ubicada a 0,49 Mb del gen LEPR (3: 80,07-80,17 Mb), este gen codifica para una proteína que se expresa en el tejido adiposo, la cual se ha identificado como el receptor de la Leptina, cumpliendo un rol importante en la regulación del apetito, el almacenamiento y metabolismo energético y la composición corporal de los mamíferos (Houseknecht and Portocarrero 1998; de Luis Roman et al. 2006; Lu et al. 2007). Cerca de esta región también se ha mapeado el gen LEPROT (*Leptin receptor overlapping transcript*) (3: 80,24-80,26 Mb) que codifica para una proteína transmembrana que participan en la regulación del tráfico intracelular de proteínas (Belgareh-Touzé et al. 2002), se ha encontrado que este gen interviene en la modulación de la sensibilidad hepática a la hormona del crecimiento (GH), en respuesta a cambios en la disponibilidad de alimento, afectando los procesos fisiológicos asociados al eje GH - IGF1 (Wu et al. 2013). En este mismo cromosoma pero para la raza ROMO se encontró una región de interés (3: 87,80-87,91 Mb) asociada con PD (0,16 gVar%), cerca de esta región (3:84-85 Mb) Bolormaa et al. (2011) encontró en un GWAS realizado en ganado carne, varios SNP asociados de manera significativa con consumo residual de alimento (4 SNP), promedio de ganancia diaria (2 SNP) y peso corporal metabólico (3 SNP). En esta región del BTA3 existen anotaciones para genes importantes, como el gen MYSM1 (3: 87,92-87,97 Mb) que se ha asociado con el control de la hematopoyesis en la médula ósea y la diferenciación de linfocitos (Nijnik et al. 2012; Wang et al. 2013), también el gen TACSTD2 (3: 88,03-88,04 Mb) que en humanos se ha relacionado con el crecimiento postnatal y el contenido de grasa corporal durante la infancia (Groom et al. 2012), y el gen OMA1 (*OMA1 zinc metallopeptidase*) (3: 88,05-88,12 Mb) que en humanos y ratones está asociado con el metabolismo de la grasa y la homeostasis energética (Head et al. 2009; Quirós et al. 2012).

En el BTA4 de la raza ROMO se encontró una región de interés (4: 20,39-20,51 Mb) asociada con dos de las características evaluadas, PD (0,30% gVar) y P16m (0,25% gVar), esta región coincide con la ubicación del gen TMEM106B (4: 19,89-19,92 Mb), que codifica para la proteína de transmembrana 106B, en ratones este gen se ha asociado con variaciones en la masa corporal magra, longitud corporal, grasa corporal, e incrementos del contenido mineral del hueso (Bult et al. 2015; International Mouse Phenotyping Consortium 2016). En este mismo cromosoma y para la misma raza existe otra región de interés (4: 39,1-39,3 Mb) con efecto común para PD (0,15 gVar%) y P16m (0,17 gVar%), que coincide con la ubicación del gen del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (4: 39,11-39,20 Mb), este es uno de los factores celulares multifuncionales que regula la proliferación celular, la motilidad celular y la morfogénesis en mamíferos (Asami et al. 1991; Schmidt et al. 1995; Uehara et al. 1995; Bladt et al. 1995). Otro gen importante ubicado cerca de esta región es el gen CACNA2D1 (*Calcium channel, voltage-dependent, alpha-2/delta subunit 1*) (4: 38,33-38,86 Mb), que codifica para una proteína accesoria asociada con los canales de calcio dependientes de voltaje (UniProt 2016) (<http://www.uniprot.org/uniprot>), de acuerdo con los resultados de un estudio realizado por Yuan and Xu 2011, existen variaciones (SNP) en el gen CACNA2D1 que están asociadas con características de la carcasa y de calidad de la carne en bovinos.

En el BTA4 se encontró otras dos regiones importantes (4 :91,1-91,2 Mb y 4 :92,0-92,2 Mb) que esta asociadas con PD en la raza ROMO (0,28% gVar) y P16m en la raza BON (0,18% gVar), respectivamente, cerca de estas dos regiones, se encuentra el gen de la Leptina (4:93,24-93,26) (Stone et al. 1996), este gen ha sido bastante estudiado en el ganado Bovino, dado el rol que desempeña la Leptina como señal lipostática que regula el peso corporal, la ingesta de alimentos, el gasto de energía, la reproducción, y ciertas funciones del sistema inmunológico (Houseknecht et al. 1998; Lord et al. 1998; Woods 1998; Larsson et al. 1998; Cunningham et al. 1999; Delavaud et al. 2002; Garcia et al. 2002; Nkrumah et al. 2005). Existe otros genes importantes con anotaciones en esta región, como el gen GRM8 (*glutamate receptor, metabotropic 8*) (4: 91,47-92,33 Mb) que codifica para un tipo de receptor acoplado a proteínas G, a través del cual, el aminoácido L-glutamato pueden modular la transmisión sináptica excitatoria en el sistema nervioso central de los mamíferos, afectando una gran variedad de proceso fisiológicos (Thomas et al. 2001; Mercier et al. 2013), también el gen PAX4 (paired box 4) (4: 92,64-92,65 Mb) que en estudios realizados

con modelos animales se encontró asociado con un incremento de células secretoras de ghrelina y de células secretoras de glucagón (Djiotsa et al. 2012).

En el BTA5 se encontró una región de interés (5: 2,09-2,20 Mb) asociada con PN en la raza BON (0,15% gVar), que coincide con la ubicación del gen TRHDE (*thyrotropin-releasing hormone degrading enzyme*) (5:1,9-2,3 Mb), este gen está relacionado con una enzima que degrada la hormona liberadora de tirotrópina (TRH). En este cromosoma se encontró otra región de interés (5: 6,46-6,55 Mb) relacionada con PN en la raza Romo (0,17% gVar), que coincide con la ubicación del gen CSRP2 (*cysteine and glycine rich protein 2*) (5: 6,26-6,28) que codifica para una proteína rica en cisteína expresada en el músculo liso vascular y cardíaco de ratones, esta proteína interactúa en el núcleo de los miocitos con factores de crecimiento y factores de transcripción para mediar en la expresión de genes relacionados con el funcionamiento y la multiplicación de este tipo de células (Chang et al. 2007; Lin et al. 2008). Otra de las regiones de interés (5:10,5-10,7 Mb), con efecto sobre PN en la raza ROMO (0,17% gVar), está ubicada cerca de los genes Myf5 (*myogenic factor 5*) y Myf6 (*myogenic factor 6 (herculin)*) (5: 10,33-10,35), que hacen parte de un grupo de factores de regulación miogénica (MFR), que controlan la diferenciación del músculo esquelético (Braun et al. 1989; Braun et al. 1990), estos factores son reconocidos por regular la miogénesis a través de la formación de fibras musculares, durante la embriogénesis se expresan en los mioblastos antes de la diferenciación, y son necesarios para la activación y proliferación de las células progenitoras musculares (Megeny and Rudnicki 1995; Hughes and Schiaffino 1999; F.W. Te Pas and A. Soumillion 2001; Robakowska-Hyzorek et al. 2010; Sarti et al. 2014), estudios recientes han permitido identificar QTLs y polimorfismo (SNP) en el gen Myf5, relacionados con variaciones en el desarrollo del tejido muscular en cerdos y bovinos (Megeny and Rudnicki 1995; te Pas et al. 1999; Drögemüller and Kempers 2000; Li et al. 2003; Shibata et al. 2006; Robakowska-Hyzorek et al. 2010; Sarti et al. 2014).

En el BTA5 de la raza ROMO se encontró otra región importante (5: 17,9-18,1 Mb), que está asociada con tres de las características evaluadas, PD (0,41% gVar), P16m (0,43% gVar) y P24m (0,45% gVar), y coincide con varios genes de interés, como el gen KITLG (KIT ligand) (5:18,32-18,38 Mb), también conocido como factor de células madre (*Mast Cell Growth Factor*), de acuerdo con los resultados reportados por Cho et al. (2008) la vía de señalización del sistema KIT / KITLG media la acción del factor de crecimiento de fibroblastos 7 (FGF7), que es un importante regulador del crecimiento de ovocitos bovinos.

Otro gen importante anotado en esta región es *TMTC3* (5:17,99-18,05 Mb) que codifica para una proteína de transmembrana con repeticiones *tetratricopeptide*, esta familia de proteínas regula el desarrollo de miofibroblastos en los alveolos pulmonares y también en las células del músculo liso bronquial (BSM) (UniProt 2016), Yun and Vu (2012) encontraron que este tipo de proteínas regulan el desarrollo de miofibroblastos a través de la modulación de la señalización del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ).

Por su parte en el BTA5 de la raza BON se identificó cuatro regiones de interés, que están ubicadas en regiones cromosómicas diferentes a las descritas en la raza ROMO, una de estas regiones (5: 40,5- 40,6, Mb) que está asociada con P24m (0,21% gVar), coincide con la ubicación del gen *CNTN1* (*contactin 1*) (5:39,9-40,4), que codifica para una proteína de adhesión neural y unión neuromuscular, mutaciones identificadas en este gen se han encontrado asociadas con la presentación de miopatías congénitas en ratones y humanos (Compton et al. 2008), lo que podría sugerir algún tipo de relación del gen *CNTN1* con la regulación del desarrollo muscular en animales. Otra de estas regiones (5:57,9-58,3 Mb) con efecto moderado para P16m en la raza BON (0,12% gVar), coincide con anotaciones de 21 genes, la mayoría de estos (17) asociados con proteínas de receptores olfativos, otro gen ubicado en esta región es *ITGA7* (5:57,8-57,9) que codifica para una proteína transmembrana denominada  $\alpha 7\beta 1$ -integrina, de acuerdo con el reporte de Lueders et al. (2011) la presencia de esta proteína en el músculo esquelético de ratones, aumenta la hipertrofia de las fibras musculares y la síntesis de nuevas fibras como respuesta al ejercicio, sugiriendo que existe una relación importante entre este gen y el desarrollo muscular en animales. Otro gen importante ubicado cerca de esta región es el gen *STAT6* (*signal transducer and activator of transcription 6*) (5:56,65-56,67), se ha encontrado que este gen actúa como mediador de la señalización de la leptina, jugando un papel importante en la regulación del peso corporal, mediante la señalización de la cantidad de tejido adiposo (Maffei et al. 1995a; Maffei et al. 1995b; Ghilardi et al. 1996). Las dos últimas regiones de interés identificadas en el cromosoma 5 de la raza BON, están asociadas con el PN (0,14% gVar) (5: 76,7-76,8 Mb y 5: 80,5-80,7 Mb), una de estas regiones coincide con la ubicación del gen *SYT10* (5:76,69-76,81), que codifica para una proteína calcio-dependiente, denominada sinaptotagmina-10, de acuerdo con los resultados del estudio de Cao et al. (2011) la sinaptotagmina-10, controla el mecanismo de exocitosis de IGF-1 en las neuronas del bulbo olfatorio.

En el BTA6 de la raza BON se identificó una región importante (6: 67,17-67,24 Mb) asociada con PD (0,19% gVar), que coincide con la ubicación de dos genes de interés, GABRA4 y GABRA1 (6:67,14-67,23 Mb), que pueden participar en diferentes procesos celulares y fisiológicos, por estar relacionados con receptores del Ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), que es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central de los mamíferos, el GABA (inhibidor) junto con el glutamato (excitador) regulan la excitabilidad de muchas neuronas en el cerebro y por tanto están implicados en importantes procesos fisiológicos (Sabaliauskas et al. 2012).

En el BTA 10 de la raza BON, se encontró una región (10: 44,36-44,48 Mb) con efecto importante para P24m (0,14% gVar), que está ubicada cerca del gen GNG2 (10: 44,71-44,85 Mb), este gen codifica para una proteína de unión a nucleótidos de guanina, que hace parte de la familia de Proteínas-G, estas proteínas están involucradas como moduladores o transductores en los diferentes sistemas de señalización transmembrana (Wilcox et al. 1995; Benovic 2012).

Dentro del BTA11 el análisis de asociación permitió identificar una región (11: 2,10-2,19 Mb) asociada con P24m en la raza ROMO (0,16% gVar), que coincide con la ubicación del gen ENSBTAG00000011553 (11 :2,12-2,14 Mb), en ratones este gen se encontró asociado con incrementos de la masa magra corporal, la longitud corporal y la densidad mineral del hueso (International Mouse Phenotyping Consortium 2016). Otra región importante en este cromosoma (11:70,83-71,09 Mb) está asociada con P16m en la raza BON (0,15% gVar), y coincide con la ubicación de algunos genes de interés, como el gen SPDYA (11:70,91-70,95) que codifica para la proteína Speedy A, la cual hace parte de una familia de proteínas (*Speedy/Ringo*) que actúan como reguladores del ciclo celular en células eucariotas, controlando la actividad de las proteínas quinasas dependientes de ciclina (CDKs) (Cheng et al. 2005b; Cheng et al. 2005a), también, el gen PPP1CB (11:70,96-70,99) asociado con una proteína fosfatasa serina / treonina (PP1), que es una enzima ubicua eucariota que regula una variedad de procesos celulares a través de la desfosforilación de decenas de sustratos (Ceulemans and Bollen 2004). Cerca de esta región, también se encontró una anotación para el gene FOSL2 (11:71,32-71,35 Mb) que codifica para la proteína FRA2 (*Fos-related antigen 2*), que hace parte de una familia de proteínas (FOS) implicadas en la regulación de la proliferación, diferenciación, y transformación celular (Bozec et al. 2010; Nakayama et al. 2012), existen reportes en la literatura que indican que FOSL2 está implicado en la regulación fisiológica de la expresión de la Leptina (Wrann et al. 2012).

En el BTA13 de la raza ROMO se encontró una región (13:2,60-2,72 Mb) asociada con PN (0,14% gVar), que coincide con la ubicación del gen PAK7 (13:2,47-2,52 Mb), este gen codifica para una proteína quinasa Serina/Treonina, este tipo de proteínas participan en diferentes vías de señalización incluyendo la regulación del citoesqueleto, la migración celular, la proliferación y la supervivencia celular (Cotteret et al. 2003; Cotteret and Chernoff 2006; Wong et al. 2010). En este cromosoma existe otra región de interés (13:19,93-20,02 Mb) asociada con P24m en la raza ROMO (0,16% gVar) que coincide con la ubicación del gen NPR1 (13:19,91-20,06 Mb), este gen codifica para una glicoproteína transmembrana conocida como Neuropilin-1 (PNR1), que juega un papel importante en diversos procesos biológicos (Neufeld et al. 2002; Bielenberg et al. 2006), estudios recientes han demostrado que PNR1 actúa como un correceptor para algunos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Soker et al. 1998; Gu et al. 2003), también el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (Sulpice et al. 2008) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Banerjee et al. 2006), sugiriendo que PNR1 es una proteína de unión a factores de crecimiento que regula el crecimiento y la proliferación celular en diferentes tejidos (Evans et al. 2011). Otra región de interés en este cromosoma (13:28,09-28,19 Mb) que está asociada con P16m (0,16% gVar) y P24m (0,26% gVar) en la raza ROMO, está relacionada con algunos genes importantes, como el gen MCM10 (13:28,13-28,17 Mb), que codificada para una de las proteínas de mantenimiento de mini-cromosomas altamente conservadas (MCM), que están implicadas en la iniciación de la replicación del genoma eucariota (Lim et al. 2011; Du et al. 2012), la MCM10 es exclusiva de los eucariotas y desempeña un papel clave en las fases de iniciación de la replicación y elongación del ADN cromosómico, afectando de manera directa la proliferación celular (Ricke and Bielinsky 2004; Maiorano et al. 2006; Patek et al. 2006; Gambus et al. 2006), otro gen importante relacionado con esta región es el gen UCMA, que codifica para una proteína que es secretada específicamente en el cartílago, con implicaciones en la osteogénesis, de acuerdo con los resultados de Surmann-Schmitt et al. (2008) y de Tagariello et al. (2008) esta proteína está implicada en el control negativo de la fase temprana de diferenciación de condrocitos, regulando la diferenciación osteogénica.

Como se había descrito previamente, el cromosoma 14 presenta algunas de las regiones de mayor interés, con regiones que están asociadas de manera simultánea con varias de las características evaluadas en las dos razas, como ocurre con la región ubicada entre 27,23 a 27,32 Mb, que presentó una asociación importante con tres de las características

evaluadas en la raza BON, PN (0,37% gVar), PD (0,22% gVar) y P16m (0,15% gVar), en el caso de la raza ROMO se identificó una única región de interés (14:24,5-24,6 Mb), que está asociada con tres de los rasgos evaluados, PD (0,57% gVar), P16m (0,52% gVar) y P24m (0,25% gVar) (Figura 3-5). Es importante resaltar que en el cromosoma 14 de la raza BON se encontró diez regiones con efecto significativo para PN, distribuidas entre 19,3 a 27,3 Mb (Tabla 4). Estos resultados coinciden con lo reportado en otros estudios de asociación genómica publicados recientemente, que han identificado una región común en este cromosoma, entre 20 y 30 Mb, que alberga SNPs asociados con rasgos de interés productivo como edad a la pubertad en machos y hembras, niveles séricos del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), el peso a diferentes edades, la altura de la cadera y la deposición de grasa en animales de la raza Brahman (*B. indicus*) y animales de razas tropicales compuestas (TC) (Fortes et al. 2012; Hawken et al. 2012). Esta región del BTA14 también se encontró asociada con fenotipos de deposición de grasa, evaluados después del sacrificio, en estudios que incluyeron ganado *B. taurus*, *B. indicus*, razas TC y animales mestizos (*B. indicus* / *B. taurus*) (Bolormaa et al. 2011b; Bolormaa et al. 2011c; Porto Neto et al. 2012). En otros estudios se ha encontrado esta misma región del BTA14 asociada con la estatura, la talla y el peso a diferentes edades en poblaciones de ganado de leche *B. taurus* (Karim et al. 2011; Littlejohn et al. 2011) y en una población de ganado Negro japonés (Nishimura et al. 2012). También, Snelling et al. (2011) y Lindholm-Perry et al. (2012) reportan SNPs presentes en esta región que se encontraron asociados con otras características importantes como el consumo promedio de alimento, consumo residual y la ganancia promedio de peso. Esta evidencia sugiere que una o más mutaciones localizadas entre 20 a 30 Mb en el BTA14 podrían tener efectos pleiotrópicos sobre diferentes rasgos de interés productivo en el ganado bovino (Fortes et al. 2013).

El cromosoma 14 bovino contiene una gran cantidad de regiones ricas en genes, lo cual es consistente con el número de anotaciones encontradas en las regiones de interés identificadas en este estudio, la mayoría de estas anotaciones corresponden a genes involucrados en procesos de replicación, diferenciación y funcionamiento celular, como el gen ZFAT (14:8,14-8,31 Mb) que codifica para una proteína similar a las proteínas del grupo Zinc Finger, que tienen una alta afinidad de unión al ADN y funcionan como reguladores de la transcripción, implicadas en la apoptosis y la supervivencia celular (Klug 2010), igualmente el gen PRKDC (*protein kinase*) (14:21,03-21,16 Mb) que codifica para una proteína quinasa (Serina / Treonina) que actúa como un sensor molecular para el daño del

ADN, y participa en la rotura y reparación de la doble cadena de ADN, siendo importante para el proceso de recombinación genética (Wechsler et al. 2004), lo mismo ocurre con el gen MCM4 (14:21,16-21,19 Mb) que codifica para una proteína que hace parte del complejo MCM2-7 (*Minichromosome maintenance protein complex*), este complejo cumple un rol esencial en la replicación del ADN eucariota y por ende afecta la proliferación celular (Ishimi 1997; You et al. 1999), otro gen importante en esta región es el gen SNAI2 (*snail family zinc finger 2*) (14:21,57-21,58 Mb) que codifica para una proteína que actúa como represor transcripcional, modulando tanto la transcripción dependiente de activador como la basal (Hemavathy et al. 2000), este gen también está implicado en la maduración de osteoblastos (Piva et al. 2011). En esta misma región es de interés el gen SOX17 (SRY-box 17) (14:23,88-23,89 Mb) que codifica para una proteína que hace parte de la familia de factores de transcripción de unión al ADN (SOX), implicados en la regulación del desarrollo embrionario, se ha comprobado que Sox17 participa en diversos procesos de desarrollo celular y actividades biológicas, como la formación del endodermo (Kanai-Azuma et al. 2002) y el desarrollo vascular (Matsui et al. 2006), también se ha demostrado que juega un papel importante en la hematopoyesis fetal que se lleva a cabo en el saco vitelino e hígado fetal, especialmente en el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas fetales y neonatales (Nakajima-Takagi et al. 2013), sugiriendo que la expresión de este gen puede afectar el peso al nacimiento de los animales de granja, finalmente para esta misma región se incluye el gen LYPLA1 (*lisofosfolipasa I*) (14:23,65-23,67), que es importante por su función como inhibidor de la hormona ghrelina (Shanado et al. 2004), lo que podría dar lugar a diferencias en el apetito y la ganancia de peso en el ganado bovino, Lindholm-Perry et al. (2012a) encontró un SNP en el gen LYPLA1 asociado de manera significativa con el consumo promedio de alimento diario en bovinos. Todos estos genes se encuentran ubicados en tres regiones de interés asociadas con la variación genética del PN en la raza BON (Tabla 4, Anexo 1).

En la región de interés identificada en el BTA14 de la raza ROMO (14:24,5-24,6 Mb) que está asociada con tres de las características evaluadas (Tabla 4), se han mapeado algunos genes importantes, como el gen XKR4 (14:24,29-24,62 Mb) y el gen TMEM68 (14:24,71-24,75 Mb), estudios recientes han identificado variaciones (SNP) en el gen XKR4 asociadas con espesor de la grasa del anca en razas taurinas e indicus (Bolormaa et al. 2011c; Porto Neto et al. 2012), sugiriendo una posible relación de este gen con el metabolismo y la deposición de grasa en el ganado bovino. También, Lindholm-Perry et al. (2012a)

identificaron cinco SNPs cerca de TMEM68 y XKR4 que están fuertemente asociados con el consumo de alimento y la ganancia de peso.

Existe otra región importante en el BTA14 (14:43,89-44,03 Mb) asociada con PN en la raza BON (0,2% gVar), que coincide con la ubicación del gen PKIA (*protein kinase (cAMP-dependent, catalytic) inhibitor alpha*) (14:43,88-43,98), este gen codifica para un potente inhibidor de la actividad de la proteína quinasa dependiente de AMPc (Gangolli et al. 2000), una gran variedad de hormonas, neurotransmisores y otras moléculas ejercen sus acciones sobre las células diana por medio de una cascada de señalización mediada por el AMP cíclico (AMPc), la generación de cAMP intracelular como respuesta a la estimulación de los receptores acoplados a proteínas G ligadas a la Adenilato Ciclasa, conduce a la activación de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA), esta cascada de señalización, es uno de los sistemas más versátiles y multifuncionales estudiados hasta la fecha, y es responsable de la modulación de numerosos procesos, tales como la secreción, activación enzimática, y la transcripción (Gangolli et al. 2000), por lo cual, es posible que polimorfismos presentes en la región de codificación de este gen, afecten algunos procesos celulares relacionados con el crecimiento de animales de granja.

La última región de interés identificada en el cromosoma 14 (14:50,97-51,05 Mb) tiene un efecto moderado para P16m en la raza BON (0,13% gVar), y coincide con la ubicación del gen TRPS1 (14:50,84-51,07 Mb) que codifica para un represor transcripcional, que reprime la expresión de genes regulados por secuencias (A/T)GATA(A/G), este tipo de genes se expresan en diferentes etapas del desarrollo de los vertebrados (Malik et al. 2001; Kaiser et al. 2003; Kaiser et al. 2007). Se ha encontrado que este gen regula la proliferación y diferenciación de condrocitos, afectando la formación del cartílago y el proceso de osificación (Suemoto et al. 2007). En humanos, mutaciones presentes en el gen TRPS1 se han asociado con trastornos esqueléticos, que se caracterizan por baja estatura y anomalías craneofaciales (Lüdecke et al. 2001).

En el cromosoma 14 bovino han sido mapeados otros genes importantes, entre estos el gen de la Tiroglobulina (TG - *Thyroglobulin*) (14:92,96-95,09 Mb), que juega un rol importante en la regulación del metabolismo y puede afectar la homeostasis de la deposición de grasa en los animales (Barendse et al. 2004; Casas et al. 2007; Gan et al. 2008; Anton et al. 2011; Hou et al. 2011), en este estudio se encontró dos regiones de interés asociadas con la variación de rasgos de crecimiento en la raza BON, ubicadas a

1,05 Mb en dirección 5' y 2,22 Mb en dirección 3' de la zona de codificación del gen de la TG. En este cromosoma también es de interés el gen PLAG1 (*zinc finger*) (14:25,00-25,05 Mb), puesto que algunos polimorfismos identificados en este gen se han relacionado de manera significativa con características de crecimiento, desarrollo y rasgos de la canal en diferentes razas de ganado de carne, sugiriendo un posible efecto pleiotrópico de este gen (Karim et al. 2011; Littlejohn et al. 2011; Hoshiba et al. 2013; Fortes et al. 2013); es de resaltar que en este estudio se encontraron algunas regiones de interés ubicadas cerca de la zona de codificación del gen PLAG1, en el caso de la raza ROMO, existe una región importante asociada con tres de las características evaluadas, ubicada a 0,36 Mb en dirección 5', por su parte, en la raza BON existe una región de interés ubicada a 1,49 Mb en dirección 3' de la región de codificación de este gen. Esto sugiere que el gen PLAG1 puede ser considerado como un posible gen candidato asociado con rasgos de crecimiento en las razas BON y ROMO.

En el BTA19 de la raza ROMO se encontró una región de interés (19: 14,92-15,12 Mb) asociada con dos de las características evaluadas, P16m (0,20% gVar) y P24m (0,24% gVar), que coincide con la ubicación del gen Gas2L2 (*growth arrest specific 2 like 2*) (19: 14,93-14,95 Mb), este gen está asociado con el crecimiento de los tendinocitos, y pertenece a una familia de 6 genes (Gas) que se expresan en los fibroblastos durante la detención del crecimiento (Schneider et al. 1988; Brancolini and Schneider 1994), se ha encontrado que el gen Gas2 está estrechamente asociado con la detención del crecimiento de este tipo de células (Lee et al. 2003).

Al igual que el BTA14, el BTA23 presenta algunas de las regiones de mayor interés, que son comunes para las dos razas. Con una región importante ubicada en la parte inicial del cromosoma (23: 0,40-0,77 Mb), que en la raza BON se encontró asociada con PD (0,22% gVar) y P16m (0,42% gVar), y de manera moderada con P24m (0,10 % gVar), esta misma región en la raza ROMO está relacionada con PD (0,15% gVar), P16m (0,24% gVar) y P24m (0,21% gVar), lo que sugiere que dentro o cerca de esta región existe uno o varios genes conservados que afectan la expresión de características asociadas al crecimiento en estas dos razas (Figura 3-6). En esta región se encontró una anotación relacionada con el gen KHDRBS2 (23: 0,18-0,86 Mb), este gen también se ha denominado como SLM1, y codifica para una proteína que es altamente expresada en el músculo esquelético y cardíaco (Brown et al. 1999), se ha demostrado que SLM1 regula eventos mediados por integrina,

incluyendo la propagación y la migración de mioblastos, y la señalización hipertrófica en el miocardio (Robinson et al. 2003).

En el BTA25 de la raza BON se encontró una región (25: 3,62-3,70 Mb) relacionada con P24m (0,16% gVar), que coincide con la ubicación del gen MGRN1 (25: 3,75-3,79 Mb), en ratones este gen se ha asociado con el mecanismo de regulación de la insulina, afectando el metabolismo de la glucosa (Phan et al. 2006). En este mismo cromosoma se identificó otra región (25:27,84-27,95 Mb) que tiene un efecto moderado para P16m (0,13% gVar), y coincide con la ubicación de varios genes de interés, como el gen PHKG1 (25:28,00-28,01 Mb) que en humanos está asociado con el síndrome de glucogénesis muscular (Wehner et al. 1994), indicando que este gen puede participar en la regulación del metabolismo del glucógeno y la glucosa, igualmente el gen SLC5A2 (25:27,77-27,78 Mb), que también se ha relacionado con el metabolismo de la glucosa (Zhao et al. 2005).

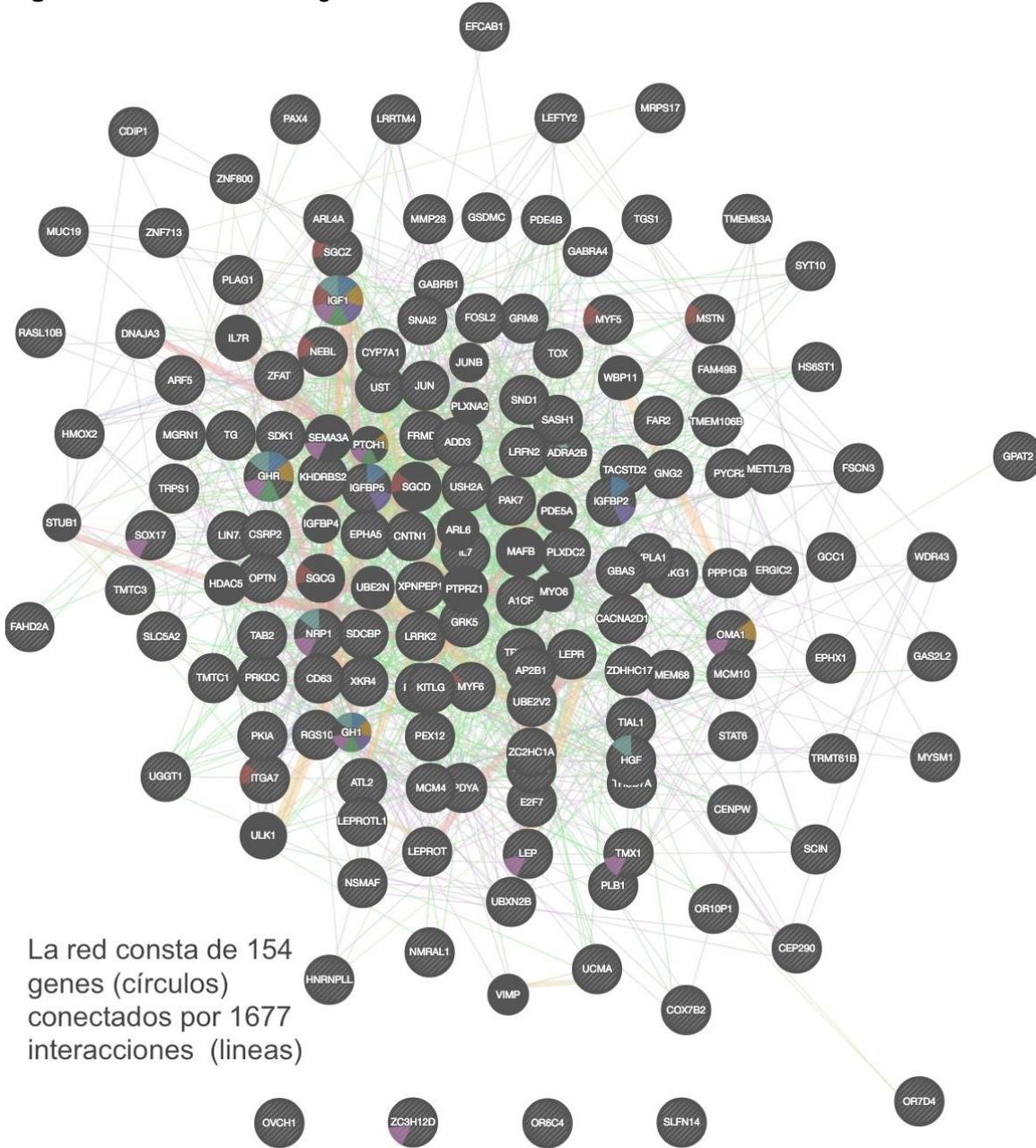
En el BTA26 se encontró una región (26:8,22-8,36 Mb) asociada con PN en la raza ROMO (0,15% gVar), que coincide con anotaciones para dos genes, el gen PRKG-I (proteína quinasa, dependiente de cGMP, tipo I) (26: 6,90-8,34 Mb) y el gen A1CF (factor de complementación APOBEC1) (26: 8,48-8,59 Mb), estos genes están relacionados con el sistema de señalización dependiente de cGMP (Sellak et al. 2011), PRKG-I controla muchas funciones celulares, incluyendo el crecimiento (Garg and Hassid 1989; Chen et al. 2004), la diferenciación celular (Lincoln et al. 2001), la apoptosis (Loweth et al. 1997; Shimojo et al. 1999) y la regulación de genes (Lincoln et al. 2001; Pilz and Broderick 2005). Otra región importante identificada en este cromosoma (26:39,90-39,99 Mb) está asociada con P24m en la raza BON (0,14% gVar), y coincide con la ubicación del gen GRK5 (receptor quinasa 5 acoplado a proteínas G) (26:39,70-39,93 Mb) y también con el gen RGS10 (regulador de la proteína G de señalización 10) (26:39,97-40,02 Mb), estos genes están relacionados con la regulación del sistema de receptores acoplados a proteínas G ligadas a la Adenilato Ciclasa, que conduce a la activación de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA) (Hunt et al. 1996; Chen et al. 2010; Barker and Benovic 2011).

Finalmente se encontró una región importante en el cromosoma 27 (27:21,46-21,58 Mb) asociada con P24m en la raza BON (0,16% gVar), que está relacionada con el gen SGCZ (sarcoglycan, zeta) (27:20,91-22,04 Mb), este gen codifica para una proteína que hace parte del complejo sarcoglicano (SGC), el SGC desempeña un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad de la membrana del músculo estriado (Campbell 1995; Liu

and Engvall 1999; Blake et al. 2002), y también es importante para mantener un adecuado equilibrio de iones de calcio y regula el desarrollo y mantenimiento de las células musculares a través de funciones de señalización (Wheeler and McNally 2003; Anastasi et al. 2007).

**Gene network y vías de enriquecimiento de genes:** luego de realizar el mapeo de genes para todas las regiones de interés identificadas en las dos razas, se encontró anotaciones para 173 genes, algunos con funciones conocidas y otros aun no caracterizados. Para complementar estos resultados, se realizó un análisis de red de genes (*gene network*) utilizando el recurso online de GeneMania (Warde-Farley et al. 2010), y una análisis de vías de enriquecimiento de genes mediante la *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery* (DAVID) (Huang et al. 2009a; Huang et al. 2009b). El análisis de *gene network* reveló una densa red de co-expresión que se puede evidenciar en la Figura 2-5. La red incluye 154 genes con 1677 interacciones entre ellos, el número de interacciones de cada gen dentro de la red se presenta en la Tabla 3-5, varios genes presentaron por lo menos 30 o más conexiones para interacciones de diferente tipo, algunas de estas, posiblemente relacionadas con su papel en la regulación del crecimiento, de acuerdo a las funciones descritas previamente. Entre los genes con mayor número de interacciones están el gen JUN, con 68 interacciones establecidas con 47 genes, este gen codifica para el factor de transcripción AP-1 (UniProt 2016), que está implicado en la regulación de la expresión de genes relacionados con la respuesta a diversos estímulos, como citoquinas, factores de crecimiento, estrés e infecciones virales o bacterianas, por lo cual este gen juega un papel crítico en varios procesos celulares incluyendo la transformación, la progresión del ciclo celular, la diferenciación y la apoptosis (Hommura et al. 2004). Otro de los genes que presenta una cantidad importante de interacciones es CNTN1 (*contactin 1*), con 54 conexiones en la red para 45 genes (Anexo B), como se había descrito previamente mutaciones identificadas en este gen se han encontrado asociadas con la presentación de miopatías congénitas en ratones y humanos (Compton et al. 2008), lo que podría sugerir algún tipo de relación del gen CNTN1 con la regulación del desarrollo muscular en animales. En esta red génica se identificó 35 genes que presenta una o más relaciones (48) con el gen del Receptor de la Hormona del Crecimiento (GHR) (Anexo B), lo que sugiere que algunos de estos genes posiblemente intervienen en diferentes mecanismos genéticos que regulan el crecimiento en este tipo de razas.

Figura 3-7: Gene network generada usando GeneMANIA.



**Networks**

- Co-expression
- Physical interactions
- Co-localization
- Predicted
- Pathway
- Shared protein domains
- Genetic interactions

**Functions**

- multicellular organism growth
- insulin-like growth factor receptor signaling pathway
- regulation of multicellular organism growth
- regulation of insulin-like growth factor receptor signaling pathway
- regulation of growth
- muscle structure development
- positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation

Para enriquecer el análisis se incluyó el gen IGF1 (insulin-like growth factor) y el gen GH1 (Hormona del crecimiento), si bien en este estudio no se encontró regiones con efecto importante ubicadas cerca de la región de codificación de estos dos genes, si es ampliamente conocido su rol en la regulación del crecimiento (Pereira et al. 2005; Islam et al. 2009; Grossi et al. 2015), y esto se ve reflejado en la cantidad de interacciones establecidas entre estos dos genes y otros genes candidatos identificados en este estudio, en el caso de IGF1, se establecieron 31 interacciones de diferente tipo con 19 genes (anexo B), para el gen GH1 se registraron 18 interacciones con 14 genes (anexo B). Como era de esperarse para un rasgo de carácter cuantitativo como el crecimiento, se evidencia una arquitectura altamente poligénica, con un gran número de genes implicados en la red, con varias conexiones entre sí.

Las figuras presentadas en el anexo C, reportan siete redes de genes funcionales que se destacaron dentro de la red general. La primera red de genes está relacionada con el crecimiento en organismo multicelulares, e incluye además de los genes IGF1 y GH1, también el GHR y PTCH1. La segunda red hace referencia a la vía de señalización del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina, e incluye genes como IGF1, GH1, GHR, IGFBP5, IGFBP2. La tercera red está asociada con la regulación del crecimiento en organismos multicelulares, que incluye genes como IGF1, GH1, GHR, PTCH1, OMA1. La cuarta red está relacionada con la regulación de la vía de señalización del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina que incluye el IGF1, GH1, IGFBP5, IGFBP2. La quinta red hace referencia a la regulación del crecimiento e incluye 10 genes de interés, como son IGF1, GH1, GHR, SEMA3A, PTCH1, SOX17, NRP1, OMA1, LEP y TMX1. La sexta red identificada está asociada con el desarrollo de la estructura muscular e incluye 9 genes candidatos, entre estos IGF1, MSTN, MYF5, MYF6, SGCZ, NEBL, SGCD, SGCG e ITGA7. Finalmente se incluye una red relacionada con la regulación positiva de la fosforilación de la peptidil-tirosina, con genes como IGF1, GHR, ADRA2B, NRP1, GH1 y HGF (ver anexo C).

La lista de 173 genes con anotaciones dentro de las regiones de interés identificadas en las dos razas, se analizó con la base de datos DAVID (Huang et al. 2009a; Huang et al. 2009b), en este análisis se identificó 20 vías de enriquecimiento de genes con valores de P-value  $\geq 0,02$  (Tabla 3-6), de estas vías las que pueden ser de interés por su posible relación con la regulación del crecimiento son: 'regulación del crecimiento (8 genes)', 'desarrollo del tejido músculo esquelético (4 genes)', 'desarrollo de órgano músculo esquelético (4 genes)',

‘desarrollo de órganos musculares (7 genes)’, ‘desarrollo vascular (7 genes)’, ‘regulación de la vía de señalización del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina (tres genes)’, ‘procesos metabólicos de reserva de energía (cuatro genes)’, ‘vía de señalización mediada por leptina (dos genes)’, ‘regulación de la cascada protein quinasa (7 genes)’, ‘regulación positiva de la replicación del ADN (3 genes)’, ‘regulación de los procesos metabólicos de ADN (5 genes)’, ‘regulación de la diferenciación de células mieloides (4 genes)’, los genes relacionados con estas vías de enriquecimiento se presentan en la Tabla 3-6, la asignación de genes a estas vías coincide con algunas de las funciones descritas previamente para cada una de los 29 genes que fueron asignados a una o varias de las vías citadas (Tabla 3-6). Es de aclarar que ninguna de estas vías cumple con el ajuste de bonferroni.

**Tabla 3-5:** Lista de genes implicados en la red de co-expresión creada usando GeneMANIA, con el respectivo número de conexiones para cada gen.

<b>GEN</b>	<b>Interacciones</b>	<b>GEN</b>	<b>Interacciones</b>	<b>GEN</b>	<b>Interacciones</b>
JUN	68	NRP1	34	TMEM106B	27
CNTN1	54	XPNPEP1	34	IGFBP2	26
GHR	48	SGCD	34	IL7R	26
PLXDC2	46	LIN7A	33	LEPR	26
SDCBP	44	MCM4	33	MYO6	26
SEMA3A	44	PTPRZ1	33	PAK7	26
USH2A	44	TOX	33	TAB2	26
MAFB	43	PTCH1	32	TIAL1	26
UBE2V2	43	ADD3	31	XKR4	26
PDE5A	42	IGF1	31	GRM8	25
SGCG	42	LRFN2	31	TRHDE	25
PRKG1	41	SDK1	31	ZDHHC17	25
GRK5	39	TMTC1	31	E2F7	24
JUNB	39	A1CF	30	CSRP2	23
SNAI2	39	AP2B1	30	FRMD6	23
FOSL2	38	CACNA2D1	30	GBAS	23
UST	38	SASH1	30	PRKDC	23
IGFBP4	37	SAP130	29	RGS10	23
IGFBP5	37	SLM1	29	TRPS1	23
SND1	36	IL7	28	UBXN2B	23
CD63	35	KITLG	28	ADRA2B	22
CYP7A1	35	ZFAT	28	LEPROT	22
GABRB1	35	MCM10	27	MGRN1	22
TG	35	MYF5	27	PKIA	22
EPHA5	34	MYF6	27	PPP1CB	22

<b>GEN</b>	<b>Interacciones</b>	<b>GEN</b>	<b>Interacciones</b>	<b>GEN</b>	<b>Interacciones</b>
TMX1	22	UGGT1	16	MMP28	7
UBE2N	22	FAR2	15	PYCR2	7
ARL6	20	OMA1	15	SYT10	7
LRRK2	20	SOX17	15	COX7B2	6
LYPLA1	20	WBP11	15	STAT6	6
NEBL	20	PHKG1	14	ZNF800	6
PLXNA2	20	SLC5A2	14	GAS2L2	5
ARL4A	20	DNAJA3	13	HNRNPLL	5
HDAC5	19	ITGA7	13	OR10P1	5
PDE4B	19	THSD7A	13	SCIN	5
TACSTD2	19	ATL2	12	VIMP	5
ZSG1	19	ERGIC2	12	CDIP1	4
GH1	18	GABRA4	12	FAHD2A	4
HGF	18	PEX12	12	GCC1	4
LEP	18	HMOX2	11	MUC19	4
LEPROTL1	18	CEP290	10	MYSM1	4
NSMAF	18	TRMT61B	10	NMRAL1	4
OPTN	18	CENPW	9	TMEM63A	4
SPDYA	18	LEFTY2	9	ZNF713	4
TMEM68	18	LRRTM4	9	GSDMC	3
ULK1	18	TMTC3	9	PAX4	3
ARF5	17	UCMA	9	RASL10B	3
FAM49B	17	WDR43	9	TGS1	3
GNG2	17	EPHX1	8	EFCAB1	2
STUB1	17	HS6ST1	8	MRPS17	2
ZC2HC1A	17	PLB1	8	OR7D4	2
GDF8	17	FSCN3	7	GPAT2	1
PLAG1	16	METTL7B	7		

<sup>1</sup> Los nombres en negrilla estaban vinculados a la regulación del crecimiento sobre la base de los resultados de reportes en la literatura.

**Tabla 3-6:** Vías de enriquecimiento de genes identificadas por la Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID version 6.7).

<b>Términos</b>	<b>PValue</b>	<b>Genes</b>	<b>Bonferroni</b>
<b>Regulación positiva de la diferenciación celular mieloide</b>	0,002	4 LEP, JUN, SCIN, KITLG	0,87
<b>Regulación de la vía de señalización del receptor de factor de crecimiento similar a la insulina</b>	0,002	3 IGF1, IGFBP2, IGFBP5	0,93
<b>Regulación de la estabilidad de proteínas</b>	0,004	4 A1CF, PRKDC, SOX17, DNAJA3	0,98
<b>Proceso metabólico de reserva de energía</b>	0,004	4 SPDYA, LEP, PHKG1, LEPR, PPP1CB	0,99
<b>Angiogénesis</b>	0,005	6 NRP1, JUN, LEPR, HS6ST1, SOX17, ADRA2B	1,00
<b>Desarrollo de órganos musculares</b>	0,005	7 MYF6, MYF5, ITGA7, IGF1, CSRP2, DNAJA3, IGFBP5	1,00
<b>Morfogénesis de vasos sanguíneos</b>	0,005	7 NRP1, JUN, LEPR, ITGA7, HS6ST1, SOX17, ADRA2B	1,00
<b>Regulación positiva de la cascada protein quinasa</b>	0,009	6 LEP, ZDHHC17, LEPR, IGF1, TAB2, GHR	1,00
<b>Regulación positiva de los procesos metabólicos de ADN</b>	0,009	4 STAT6, JUN, IGF1, KITLG	1,00
<b>Desarrollo de vasos sanguíneos</b>	0,011	7 NRP1, JUN, LEPR, ITGA7, HS6ST1, SOX17, ADRA2B	1,00
<b>Regulación del metabolismo del ADN</b>	0,011	5 STAT6, JUN, IGF1, KITLG, UBE2V2	1,00
<b>Regulación de la cascada protein quinasa</b>	0,011	7 LEP, ZDHHC17, LEPR, IGF1, TAB2, DNAJA3, GHR	1,00
<b>Desarrollo vascular</b>	0,012	7 NRP1, JUN, LEPR, ITGA7, HS6ST1, SOX17, ADRA2B	1,00
<b>Desarrollo de órganos musculares</b>	0,014	4 MYF6, MYF5, DNAJA3, IGFBP5	1,00
<b>Desarrollo del tejido músculo esquelético</b>	0,014	4 MYF6, MYF5, DNAJA3, IGFBP5	1,00
<b>Regulación del crecimiento</b>	0,015	8 LEP, TMX1, NRP1, IL7, IGF1, IGFBP2, GHR, IGFBP5	1,00
<b>Vía de señalización mediada por leptina</b>	0,015	2 LEP, LEPR	1,00
<b>Regulación de la diferenciación de células mieloides</b>	0,016	4 LEP, JUN, SCIN, KITLG	1,00
<b>Regulación positiva de la replicación del ADN</b>	0,019	3 JUN, IGF1, KITLG	1,00
<b>Estabilización de proteínas</b>	0,019	3 A1CF, SOX17, DNAJA3	1,00

### 3.6 Conclusión

En este estudio se identificaron 54 regiones genómicas asociadas con características de crecimiento en las razas evaluadas (QTL), con 28 regiones de interés en la raza BON, y 26 en la raza ROMO, donde se localizaron 53 posibles genes candidatos posicionales. En particular, se detectaron SNPs con efecto importante, ubicados cerca de genes que tienen un rol conocido en la regulación del crecimiento, como LEPR (receptor de la leptina), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), LEP (leptina), Myf5 (factor miogénico 5), TG (Tiroglobulina) y PLAG1 (zinc finger). Existen dos regiones genómicas con efecto común para las dos razas, asociadas con varias de las características evaluadas, con una región en el BTA14 que es consistente con los reportes de varios GWAS en otras razas de ganado, además contiene algunos genes candidatos de interés como XKR4, TMEM68 y PLAG1. La segunda región esta ubicada en el BTA23 y no ha sido reportada en otras razas, sin embargo, los resultados de este estudio sugieren que el gen KHDRBS2 ubicado en este punto, esta relacionado con la regulación del crecimiento en este tipo de razas criollas.

### 3.7 Bibliografía

Aguilar I, Misztal I, Johnson DL, Legarra A, Tsuruta S and Lawlor TJ (2010) Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *J Dairy Sci* 93:743–752. doi: 10.3168/jds.2009-2730

Aguilar I, Misztal I, Legarra A and Tsuruta S (2011) Efficient computation of the genomic relationship matrix and other matrices used in single-step evaluation. *J Anim Breed Genet* 128:422–8. doi: 10.1111/j.1439-0388.2010.00912.x

Alberta Agriculture and Rural Development. (2006) Residual Feed Intake (Net Feed Efficiency) in Beef Cattle.

Anastasi G, Cutroneo G, Sidoti A, Rinaldi C, Bruschetta D, Rizzo G, D'Angelo R, Tarone G, Amato A and Favalaro A (2007) Sarcoglycan subcomplex expression in normal human smooth muscle. *J Histochem Cytochem* 55:831–43. doi: 10.1369/jhc.6A7145.2007

AnimalQTLdb (2016) AnimalQTLdb. <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>. Accessed 17 Mar 2016

Anton I, Kovács K, Holló G, Farkas V, Lehel L, Hajda Z and Zsolnai A (2011) Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Livest Sci* 135:300–303. doi: 10.1016/j.livsci.2010.07.012

Ardlie KG, Kruglyak L and Seielstad M (2002) Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* 3:299–309. doi: 10.1038/nrg777

Asami O, Ihara I, Shimidzu N, Shimizu S, Tomita Y, Ichihara A and Nakamura T (1991) Purification and characterization of hepatocyte growth factor from injured liver of carbon tetrachloride-treated rats. *J Biochem* 109:8–13.

- Baldi F, Albuquerque LG and Alencar MM (2010) Random regression models on Legendre polynomials to estimate genetic parameters for weights from birth to adult age in Canchim cattle. *J Anim Breed Genet* 127:289–99. doi: 10.1111/j.1439-0388.2010.00853.x
- Banerjee S, Sengupta K, Dhar K, Mehta S, D'Amore PA, Dhar G and Banerjee SK (2006) Breast cancer cells secreted platelet-derived growth factor-induced motility of vascular smooth muscle cells is mediated through neuropilin-1. *Mol Carcinog* 45:871–80. doi: 10.1002/mc.20248
- Barendse W, Bunch R, Thomas M, Armitage S, Baud S and Donaldson N (2004) The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Aust J Exp Agric* 44:669. doi: 10.1071/EA02156
- Barker BL and Benovic JL (2011) G protein-coupled receptor kinase 5 phosphorylation of hip regulates internalization of the chemokine receptor CXCR4. *Biochemistry* 50:6933–41. doi: 10.1021/bi2005202
- Barwick SA and Henzell AL (2005) Development successes and issues for the future in deriving and applying selection indexes for beef breeding. *Aust J Exp Agric* 45:923. doi: 10.1071/EA05068
- Belgareh-Touzé N, Avaro S, Rouillé Y, Hoflack B and Haguenaer-Tsapis R (2002) Yeast Vps55p, a functional homolog of human obesity receptor gene-related protein, is involved in late endosome to vacuole trafficking. *Mol Biol Cell* 13:1694–708. doi: 10.1091/mbc.01-12-0597
- Bennett GL, Thallman RM, Snelling WM and Kuehn LA (2008) Experimental selection for calving ease and postnatal growth in seven cattle populations. II. Phenotypic differences. *J Anim Sci* 86:2103–14. doi: 10.2527/jas.2007-0768
- Benovic JL (2012) G-protein-coupled receptors signal victory. *Cell* 151:1148–50. doi: 10.1016/j.cell.2012.11.015
- Bielenberg DR, Pettaway CA, Takashima S and Klagsbrun M (2006) Neuropilins in neoplasms: expression, regulation, and function. *Exp Cell Res* 312:584–93. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.11.024
- Bladt F, Riethmacher D, Isenmann S, Aguzzi A and Birchmeier C (1995) Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 376:768–71. doi: 10.1038/376768a0
- Blake DJ, Weir A, Newey SE and Davies KE (2002) Function and Genetics of Dystrophin and Dystrophin-Related Proteins in Muscle. *Physiol Rev* 82:291–329.
- Bolormaa S, Hayes BJ, Hawken RJ, Zhang Y, Reverter A and Goddard ME (2011a) Detection of chromosome segments of zebu and taurine origin and their effect on beef production and growth. *J Anim Sci* 89:2050–60. doi: 10.2527/jas.2010-3363
- Bolormaa S, Hayes BJ, Savin K, Hawken R, Barendse W, Arthur PF, Herd RM and Goddard ME (2011b) Genome-wide association studies for feedlot and growth traits in cattle. *J Anim Sci* 89:1684–1697. doi: 10.2527/jas.2010-3079
- Bolormaa S, Neto LRP, Zhang YD, Bunch RJ, Harrison BE, Goddard ME and Barendse W (2011c) A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. *J Anim Sci* 89:2297–309. doi: 10.2527/jas.2010-3138
- Bozec A, Bakiri L, Jimenez M, Schinke T, Amling M and Wagner EF (2010) Fra-2/AP-1 controls bone formation by regulating osteoblast differentiation and collagen production. *J Cell Biol* 190:1093–106. doi: 10.1083/jcb.201002111
- Brancolini C and Schneider C (1994) Phosphorylation of the growth arrest-specific protein Gas2 is coupled to actin rearrangements during Go-->G1 transition in NIH 3T3 cells. *J Cell Biol* 124:743–56.
- Braun T, Bober E, Winter B, Rosenthal N and Arnold HH (1990) Myf-6, a new member of the human gene family of myogenic determination factors: evidence for a gene cluster on chromosome 12. *EMBO J* 9:821–31.

- Braun T, Buschhausen-Denker G, Bober E, Tannich E and Arnold HH (1989) A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T1/2 fibroblasts. *EMBO J* 8:701–9.
- Brown S, McGrath MJ, Ooms LM, Gurung R, Maimone MM and Mitchell CA (1999) Characterization of Two Isoforms of the Skeletal Muscle LIM Protein 1, SLIM1: localization of SLIM1 at focal adhesions and the isoform slimmer in the nucleus of myoblasts and cytoplasm of myotubes suggests distinct roles in the cytoskeleton and in nuclear. *J Biol Chem* 274:27083–27091. doi: 10.1074/jbc.274.38.27083
- Bult CJ, Eppig JT, Blake JA, Kadin JA and Richardson JE (2015) Mouse genome database 2016. *Nucleic Acids Res* 44:D840–7. doi: 10.1093/nar/gkv1211
- Buzanskas ME, Grossi D a, Ventura R V, Schenkel FS, Sargolzaei M, Meirelles SLC, Mokry FB, Higa RH, Mudadu M a, da Silva MVGB et al. (2014) Genome-wide association for growth traits in Canchim beef cattle. *PLoS One* 9:e94802. doi: 10.1371/journal.pone.0094802
- Buzanskas ME, Grossi DA, Baldi F, Barrozo D, Silva LOC, Torres Júnior RAA, Munari DP and Alencar MM (2010) Genetic associations between stayability and reproductive and growth traits in Canchim beef cattle. *Livest Sci* 132:107–112. doi: 10.1016/j.livsci.2010.05.008
- Campbell KP (1995) Three muscular dystrophies: loss of cytoskeleton-extracellular matrix linkage. *Cell* 80:675–9.
- Cañas J, Ramirez J, Arboleda O, Ochoa J, Vergara O and Cerón M (2008) Estimación de parámetros genéticos para peso al destete en ganado Blanco Orejinegro (BON) en el Noroccidente Colombiano. *Rev MVZ Córdoba* 13:1138–1145.
- Cao P, Maximov A and Südhof TC (2011) Activity-dependent IGF-1 exocytosis is controlled by the Ca(2+)-sensor synaptotagmin-10. *Cell* 145:300–11. doi: 10.1016/j.cell.2011.03.034
- Casas E, White SN, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M, Bennett GL and Smith TPL (2007) Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *J Anim Sci* 85:2807–14. doi: 10.2527/jas.2007-0179
- Ceulemans H and Bollen M (2004) Functional diversity of protein phosphatase-1, a cellular economizer and reset button. *Physiol Rev* 84:1–39. doi: 10.1152/physrev.00013.2003
- Chan EKF, Hawken R and Reverter A (2009) The combined effect of SNP-marker and phenotype attributes in genome-wide association studies. *Anim Genet* 40:149–56. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01816.x
- Chang DF, Belaguli NS, Chang J and Schwartz RJ (2007) LIM-only protein, CRP2, switched on smooth muscle gene activity in adult cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:157–62. doi: 10.1073/pnas.0605635103
- Chen L, Daum G, Chitaley K, Coats SA, Bowen-Pope DF, Eigenthaler M, Thumati NR, Walter U and Clowes AW (2004) Vasodilator-stimulated phosphoprotein regulates proliferation and growth inhibition by nitric oxide in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:1403–8. doi: 10.1161/01.ATV.0000134705.39654.53
- Chen X, Zhu H, Yuan M, Fu J, Zhou Y and Ma L (2010) G-protein-coupled receptor kinase 5 phosphorylates p53 and inhibits DNA damage-induced apoptosis. *J Biol Chem* 285:12823–30. doi: 10.1074/jbc.M109.094243
- Cheng A, Gerry S, Kaldis P and Solomon MJ (2005a) Biochemical characterization of Cdk2-Speedy/Ringo A2. *BMC Biochem* 6:19. doi: 10.1186/1471-2091-6-19
- Cheng A, Xiong W, Ferrell JE and Solomon MJ (2005b) Identification and comparative analysis of multiple mammalian Speedy/Ringo proteins. *Cell Cycle* 4:155–65.
- Cho J-H, Itoh T, Sendai Y and Hoshi H (2008) Fibroblast growth factor 7 stimulates in vitro growth of oocytes originating from bovine early antral follicles. *Mol Reprod Dev* 75:1736–43. doi: 10.1002/mrd.20912

- Christensen OF and Lund MS (2010) Genomic prediction when some animals are not genotyped. *Genet Sel Evol* 42:2. doi: 10.1186/1297-9686-42-2
- Clempson AM, Pollott GE, Brickell JS and Wathes DC (2012) Associations between bovine IGFBP2 polymorphisms with fertility, milk production, and metabolic status in UK dairy cows. *Anim Biotechnol* 23:101–13. doi: 10.1080/10495398.2011.650775
- Compton AG, Albrecht DE, Seto JT, Cooper ST, Ilkovski B, Jones KJ, Challis D, Mowat D, Ranscht B, Bahlo M et al. (2008) Mutations in contactin-1, a neural adhesion and neuromuscular junction protein, cause a familial form of lethal congenital myopathy. *Am J Hum Genet* 83:714–24. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.10.022
- Cotteret S and Chernoff J (2006) Nucleocytoplasmic shuttling of Pak5 regulates its antiapoptotic properties. *Mol Cell Biol* 26:3215–30. doi: 10.1128/MCB.26.8.3215-3230.2006
- Cotteret S, Jaffer ZM, Beeser A and Chernoff J (2003) p21-Activated kinase 5 (Pak5) localizes to mitochondria and inhibits apoptosis by phosphorylating BAD. *Mol Cell Biol* 23:5526–39.
- Cunningham MJ, Clifton DK and Steiner RA (1999) Leptin's Actions on the Reproductive Axis: Perspectives and Mechanisms. *Biol Reprod* 60:216–222. doi: 10.1095/biolreprod60.2.216
- de Luis Roman D, de la Fuente RA, Sagrado MG, Izaola O and Vicente RC (2006) Leptin receptor Lys656Asn polymorphism is associated with decreased leptin response and weight loss secondary to a lifestyle modification in obese patients. *Arch Med Res* 37:854–9. doi: 10.1016/j.arcmed.2006.03.009
- Delavaud C, Ferlay A, Faulconnier Y, Bocquier F, Kann G and Chilliard Y (2002) Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J Anim Sci* 80:1317–1328. doi: /2002.8051317x
- Dikmen S, Cole JB, Null DJ and Hansen PJ (2013) Genome-wide association mapping for identification of quantitative trait loci for rectal temperature during heat stress in Holstein cattle. *PLoS One* 8:e69202. doi: 10.1371/journal.pone.0069202
- Djiotsa J, Verbruggen V, Giacomotto J, Ishibashi M, Manning E, Rinkwitz S, Manfroid I, Voz ML and Peers B (2012) Pax4 is not essential for beta-cell differentiation in zebrafish embryos but modulates alpha-cell generation by repressing arx gene expression. *BMC Dev Biol* 12:37. doi: 10.1186/1471-213X-12-37
- Doran AG, Berry DP and Creevey CJ (2014) Whole genome association study identifies regions of the bovine genome and biological pathways involved in carcass trait performance in Holstein-Friesian cattle. *BMC Genomics* 15:837. doi: 10.1186/1471-2164-15-837
- Drögemüller C and Kempers A (2000) A TaqI PCR-RFLP at the bovine myogenic factor ( MYF5 ) gene. *Anim Genet* 31:146–146. doi: 10.1046/j.1365-2052.2000.00598.x
- Du W, Stauffer ME and Eichman BF (2012) Structural biology of replication initiation factor Mcm10. *Subcell Biochem* 62:197–216. doi: 10.1007/978-94-007-4572-8\_11
- Ensembl (2016) Ensembl Genome Browser. <http://www.ensembl.org/index.html>. Accessed 17 Mar 2016
- Evans IM, Yamaji M, Britton G, Pellet-Many C, Lockie C, Zachary IC and Frankel P (2011) Neuropilin-1 signaling through p130Cas tyrosine phosphorylation is essential for growth factor-dependent migration of glioma and endothelial cells. *Mol Cell Biol* 31:1174–85. doi: 10.1128/MCB.00903-10
- F.W. Te Pas and A. Soumilion M (2001) Improvement of Livestock Breeding Strategies Using Physiologic and Functional Genomic Information of the Muscle Regulatory Factors Gene Family for Skeletal Muscle Development. *Curr Genomics* 2::285–304.
- FAO (2009) Preparación de las estrategias nacionales y los planes de acción sobre los recursos Zoogenéticos. Roma

Fortes MRS, Kemper K, Sasazaki S, Reverter A, Pryce JE, Barendse W, Bunch R, McCulloch R, Harrison B, Bolormaa S et al. (2013) Evidence for pleiotropism and recent selection in the PLAG1 region in Australian Beef cattle. *Anim Genet* 44:636–47. doi: 10.1111/age.12075

Fortes MRS, Lehnert SA, Bolormaa S, Reich C, Fordyce G, Corbet NJ, Whan V, Hawken RJ and Reverter A (2012) Finding genes for economically important traits: Brahman cattle puberty. *Anim Prod Sci* 52:143. doi: 10.1071/AN11165

Fragomeni B de O, Misztal I, Lourenco DL, Aguilar I, Okimoto R and Muir WM (2014) Changes in variance explained by top SNP windows over generations for three traits in broiler chicken. *Front Genet* 5:332. doi: 10.3389/fgene.2014.00332

Gambus A, Jones RC, Sanchez-Diaz A, Kanemaki M, van Deursen F, Edmondson RD and Labib K (2006) GINS maintains association of Cdc45 with MCM in replisome progression complexes at eukaryotic DNA replication forks. *Nat Cell Biol* 8:358–66. doi: 10.1038/ncb1382

Gan Q-F, Zhang L-P, Li J-Y, Hou G-Y, Li H-D, Gao X, Ren H-Y, Chen J-B and Xu S-Z (2008) Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *J Appl Genet* 49:251–5. doi: 10.1007/BF03195621

Gangolli EA, Belyamani M, Muchinsky S, Narula A, Burton KA, McKnight GS, Uhler MD and Idzerda RL (2000) Deficient gene expression in protein kinase inhibitor alpha Null mutant mice. *Mol Cell Biol* 20:3442–8.

Garcia MR, Amstalden M, Williams SW, Stanko RL, Morrison CD, Keisler DH, Nizielski SE and Williams GL (2002) Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *J Anim Sci* 80:2158–2167. doi: /2002.8082158x

Garg UC and Hassid A (1989) Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 83:1774–7. doi: 10.1172/JCI114081

Gavioli VRN, Buzanskas ME, Cruz VAR, Savegnago RP, Munari DP, Freitas AR and Alencar MM (2012) Genetic associations between weight at maturity and maturation rate with ages and weights at first and second calving in Canchim beef cattle. *J Appl Genet* 53:331–5. doi: 10.1007/s13353-012-0100-6

GeneCards (2016) GenesCards Human Gene Database. In: Weizmann Inst. Sci. <http://www.genecards.org/>. Accessed 17 Mar 2016

Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH and Skoda RC (1996) Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:6231–5.

Goddard ME and Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nat Rev Genet* 10:381–91. doi: 10.1038/nrg2575

Groom A, Potter C, Swan DC, Fatemifar G, Evans DM, Ring SM, Turcot V, Pearce MS, Embleton ND, Smith GD et al. (2012) Postnatal growth and DNA methylation are associated with differential gene expression of the TACSTD2 gene and childhood fat mass. *Diabetes* 61:391–400. doi: 10.2337/db11-1039

Grossi D do A, Buzanskas ME, Grupioni NV, de Paz CCP, Regitano LC de A, de Alencar MM, Schenkel FS and Munari DP (2015) Effect of IGF1, GH, and PIT1 markers on the genetic parameters of growth and reproduction traits in Canchim cattle. *Mol Biol Rep* 42:245–51. doi: 10.1007/s11033-014-3767-4

Gu C, Rodriguez ER, Reimert D V, Shu T, Fritsch B, Richards LJ, Kolodkin AL and Ginty DD (2003) Neuropilin-1 conveys semaphorin and VEGF signaling during neural and cardiovascular development. *Dev Cell* 5:45–57.

Gutiérrez-Gil B, Williams JL, Homer D, Burton D, Haley CS and Wiener P (2009) Search for quantitative trait loci affecting growth and carcass traits in a cross population of beef and dairy cattle. *J Anim Sci* 87:24–36. doi: 10.2527/jas.2008-0922

- Hawken RJ, Zhang YD, Fortes MRS, Collis E, Barris WC, Corbet NJ, Williams PJ, Fordyce G, Holroyd RG, Walkley JRW et al. (2012) Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. *J Anim Sci* 90:1398–410. doi: 10.2527/jas.2011-4410
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain a J and Goddard ME (2009) Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *J Dairy Sci* 92:433–443. doi: 10.3168/jds.2008-1646
- Head B, Griparic L, Amiri M, Gandre-Babbe S and van der Blik AM (2009) Inducible proteolytic inactivation of OPA1 mediated by the OMA1 protease in mammalian cells. *J Cell Biol* 187:959–66. doi: 10.1083/jcb.200906083
- Hemavathy K, Guru SC, Harris J, Chen JD and Ip YT (2000) Human Slug is a repressor that localizes to sites of active transcription. *Mol Cell Biol* 20:5087–95.
- Hirschhorn JN and Daly MJ (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 6:95–108. doi: 10.1038/nrg1521
- Hommura F, Katabami M, Leaner VD, Donninger H, Sumter TF, Resar LMS and Birrer MJ (2004) HMG-I/Y is a c-Jun/activator protein-1 target gene and is necessary for c-Jun-induced anchorage-independent growth in Rat1a cells. *Mol Cancer Res* 2:305–14. doi: 10.1073/pnas.92.25.11731
- Hoshihara H, Setoguchi K, Watanabe T, Kinoshita A, Mizoshita K, Sugimoto Y and Takasuga A (2013) Comparison of the effects explained by variations in the bovine PLAG1 and NCAPG genes on daily body weight gain, linear skeletal measurements and carcass traits in Japanese Black steers from a progeny testing program. *Anim Sci J = Nihon chikusan Gakkaiho* 84:529–34. doi: 10.1111/asj.12033
- Hou G-Y, Yuan Z-R, Zhou H-L, Zhang L-P, Li J-Y, Gao X, Wang D-J, Gao H-J and Xu S-Z (2011) Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Mol Biol Rep* 38:4705–4708. doi: 10.1007/s11033-010-0605-1
- Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL and Spurlock ME (1998) The Biology of Leptin: A Review. *J Anim Sci* 76:1405–1420. doi: /1998.7651405x
- Houseknecht KL and Portocarrero CP (1998) Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol* 15:457–75.
- Howard JT, Jiao S, Tiezzi F, Huang Y, Gray KA and Maltecca C (2015) Genome-wide association study on legendre random regression coefficients for the growth and feed intake trajectory on Duroc Boars. *BMC Genet* 16:59. doi: 10.1186/s12863-015-0218-8
- Huang DW, Sherman BT and Lempicki RA (2009a) Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res* 37:1–13. doi: 10.1093/nar/gkn923
- Huang DW, Sherman BT and Lempicki RA (2009b) Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc* 4:44–57. doi: 10.1038/nprot.2008.211
- Hughes SM and Schiaffino S (1999) Control of muscle fibre size: a crucial factor in ageing. *Acta Physiol Scand* 167:307–12. doi: 10.1046/j.1365-201x.1999.00622.x
- Hunt TW, Fields TA, Casey PJ and Peralta EG (1996) RGS10 is a selective activator of G alpha i GTPase activity. *Nature* 383:175–7. doi: 10.1038/383175a0
- Illumina Inc. (2016) BovineSNP50 Genotyping BeadChip. In: [http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_bovine\\_snp50.pdf](http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf).
- International Mouse Phenotyping Consortium (2016) IMPC | International Mouse Phenotyping Consortium. In: IMPC. <https://www.mousephenotype.org/>. Accessed 6 Mar 2016
- Ioannidis JPA (2013) This I believe in genetics: discovery can be a nuisance, replication is science, implementation matters. *Front Genet* 4:33. doi: 10.3389/fgene.2013.00033
- Ishimi Y (1997) A DNA helicase activity is associated with an MCM4, -6, and -7 protein complex. *J Biol Chem* 272:24508–13.

Islam KK, Vinsky M, Crews RE, Okine E, Moore SS, Crews DH and Li C (2009) Association analyses of a SNP in the promoter of IGF1 with fat deposition and carcass merit traits in hybrid, Angus and Charolais beef cattle. *Anim Genet* 40:766–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01912.x

Jones JI and Clemmons DR (1995) Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16:3–34. doi: 10.1210/edrv-16-1-3

Kaiser FJ, Lüdecke H-J and Weger S (2007) SUMOylation modulates transcriptional repression by TRPS1. *Biol Chem* 388:381–90. doi: 10.1515/BC.2007.051

Kaiser FJ, Möröy T, Chang GTG, Horsthemke B and Lüdecke H-J (2003) The RING finger protein RNF4, a co-regulator of transcription, interacts with the TRPS1 transcription factor. *J Biol Chem* 278:38780–5. doi: 10.1074/jbc.M306259200

Kanai-Azuma M, Kanai Y, Gad JM, Tajima Y, Taya C, Kurohmaru M, Sanai Y, Yonekawa H, Yazaki K, Tam PPL et al. (2002) Depletion of definitive gut endoderm in Sox17-null mutant mice. *Development* 129:2367–2379.

Karim L, Takeda H, Lin L, Druet T, Arias JAC, Baurain D, Cambisano N, Davis SR, Farnir F, Grisart B et al. (2011) Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing PLAG1 influence bovine stature. *Nat Genet* 43:405–13. doi: 10.1038/ng.814

Ke X, Hunt S, Tapper W, Lawrence R, Stavrides G, Ghorri J, Whittaker P, Collins A, Morris AP, Bentley D et al. (2004) The impact of SNP density on fine-scale patterns of linkage disequilibrium. *Hum Mol Genet* 13:577–88. doi: 10.1093/hmg/ddh060

Kizilkaya K, Fernando RL and Garrick DJ (2010) Genomic prediction of simulated multibreed and purebred performance using observed fifty thousand single nucleotide polymorphism genotypes. *J Anim Sci* 88:544–51. doi: 10.2527/jas.2009-2064

Klug A (2010) The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. *Annu Rev Biochem* 79:213–31. doi: 10.1146/annurev-biochem-010909-095056

Kruglyak L (1999) Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet* 22:139–44. doi: 10.1038/9642

Larmer SG, Sargolzaei M and Schenkel FS (2014) Extent of linkage disequilibrium, consistency of gametic phase, and imputation accuracy within and across Canadian dairy breeds. *J Dairy Sci* 97:3128–41. doi: 10.3168/jds.2013-6826

Larsson H, Elmståhl S, Berglund G and Ahrén B (1998) Evidence for leptin regulation of food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 83:4382–5. doi: 10.1210/jcem.83.12.5342

Lee KKH, Cai DQ, Tang MK, Tsang KF, Kwong WH and Chow PH (2003) Growth arrest-specific 2 gene expression during patellar tendon healing. *Cells Tissues Organs* 173:138–46. doi: 69473

Lee SH, Choi BH, Lim D, Gondro C, Cho YM, Dang CG, Sharma A, Jang GW, Lee KT, Yoon D et al. (2013) Genome-wide association study identifies major loci for carcass weight on BTA14 in Hanwoo (Korean cattle). *PLoS One* 8:e74677. doi: 10.1371/journal.pone.0074677

Lee SH, van der Werf JHJ, Hayes BJ, Goddard ME and Visscher PM (2008) Predicting unobserved phenotypes for complex traits from whole-genome SNP data. *PLoS Genet* 4:e1000231. doi: 10.1371/journal.pgen.1000231

Legarra a, Aguilar I and Misztal I (2009) A relationship matrix including full pedigree and genomic information. *J Dairy Sci* 92:4656–4663. doi: 10.3168/jds.2009-2061

Lemos MVA, Chiaia HLJ, Berton MP, Feitosa FLB, Aboujaoud C, Camargo GMF, Pereira ASC, Albuquerque LG, Ferrinho AM, Mueller LF et al. (2016) Genome-wide association between single nucleotide polymorphisms with beef fatty acid profile in Nellore cattle using the single step procedure. *BMC Genomics* 17:213. doi: 10.1186/s12864-016-2511-y

- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Hansen C and Moore SS (2003) Assessment of positional candidate genes 5 and 1 for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of. *J Anim Sci* 82:1–7. doi: /2004.8211
- Lim HJ, Jeon Y, Jeon CH, Kim JH and Lee H (2011) Targeted disruption of Mcm10 causes defective embryonic cell proliferation and early embryo lethality. *Biochim Biophys Acta* 1813:1777–83. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.05.012
- Lin D-W, Chang I-C, Tseng A, Wu M-L, Chen C-H, Patenaude CA, Layne MD and Yet S-F (2008) Transforming growth factor beta up-regulates cysteine-rich protein 2 in vascular smooth muscle cells via activating transcription factor 2. *J Biol Chem* 283:15003–14. doi: 10.1074/jbc.M801621200
- Lincoln TM, Dey N and Sellak H (2001) Invited review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: from the regulation of tone to gene expression. *J Appl Physiol* 91:1421–30.
- Lindholm-Perry AK, Kuehn LA, Smith TPL, Ferrell CL, Jenkins TG, Freetly HC and Snelling WM (2012) A region on BTA14 that includes the positional candidate genes LYPLA1, XKR4 and TMEM68 is associated with feed intake and growth phenotypes in cattle(1). *Anim Genet* 43:216–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02232.x
- Littlejohn M, Grala T, Sanders K, Walker C, Waghorn G, Macdonald K, Coppieters W, Georges M, Spelman R, Hillerton E et al. (2011) Genetic variation in PLAG1 associates with early life body weight and peripubertal weight and growth in *Bos taurus*. *Anim Genet* 43:591–4. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02293.x
- Liu LA and Engvall E (1999) Sarcoglycan Isoforms in Skeletal Muscle. *J Biol Chem* 274:38171–38176. doi: 10.1074/jbc.274.53.38171
- Liu Y, Qin X, Song X-Z, Jiang H, Shen Y, Durbin KJ, Lien S, Kent M, Sodeland M, Ren Y et al. (2009) *Bos taurus* genome assembly. *BMC Genomics* 10:180. doi: 10.1186/1471-2164-10-180
- Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR and Lechler RI (1998) Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394:897–902.
- Loweth AC, Williams GT, Scarpello JH and Morgan NG (1997) Evidence for the involvement of cGMP and protein kinase G in nitric oxide-induced apoptosis in the pancreatic B-cell line, HIT-T15. *FEBS Lett* 400:285–8.
- Lu D, Miller S, Sargolzaei M, Kelly M, Vander Voort G, Caldwell T, Wang Z and Moore S (2013) Genome-wide association analyses for growth and feed efficiency traits in beef cattle. *J Anim Sci* 91:3612–3633. doi: 10.2527/jas2012-5716
- Lu H, Sun J, Xu Y, Xie D, Sun L and Shu X (2007) Association between the leptin receptor gene polymorphism and lipoprotein profile in Chinese type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* 1:259–265. doi: 10.1016/j.dsx.2007.09.008
- Lüdecke HJ, Schaper J, Meinecke P, Momeni P, Gross S, von Holtum D, Hirche H, Abramowicz MJ, Albrecht B, Apacik C et al. (2001) Genotypic and phenotypic spectrum in tricho-rhino-phalangeal syndrome types I and III. *Am J Hum Genet* 68:81–91.
- Lueders TN, Zou K, Huntsman HD, Meador B, Mahmassani Z, Abel M, Valero MC, Huey KA and Boppart MD (2011) The  $\alpha 7\beta 1$ -integrin accelerates fiber hypertrophy and myogenesis following a single bout of eccentric exercise. *AJP Cell Physiol* 301:C938–C946. doi: 10.1152/ajpcell.00515.2010
- MacLeod IM, Hayes BJ, Savin KW, Chamberlain a. J, McPartlan HC and Goddard ME (2010) Power of a genome scan to detect and locate quantitative trait loci in cattle using dense single nucleotide polymorphisms. *J Anim Breed Genet* 127:133–142. doi: 10.1111/j.1439-0388.2009.00831.x
- MacNeil MD (2003) Genetic evaluation of an index of birth weight and yearling weight to improve efficiency of beef production. *J Anim Sci* 81:2425–33.

- MacNeil MD, Urick JJ and Snelling WM (1998) Comparison of selection by independent culling levels for below-average birth weight and high yearling weight with mass selection for high yearling weight in line 1 Hereford cattle. *J Anim Sci* 76:458–67.
- Maffei M, Fei H, Lee GH, Dani C, Leroy P, Zhang Y, Proenca R, Negrel R, Ailhaud G and Friedman JM (1995a) Increased expression in adipocytes of ob RNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:6957–60.
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S et al. (1995b) Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1:1155–1161. doi: 10.1038/nm1195-1155
- Maiorano D, Lutzmann M and Méchali M (2006) MCM proteins and DNA replication. *Curr Opin Cell Biol* 18:130–136. doi: 10.1016/j.ceb.2006.02.006
- Malik TH, Shoichet SA, Latham P, Kroll TG, Peters LL and Shivdasani RA (2001) Transcriptional repression and developmental functions of the atypical vertebrate GATA protein TRPS1. *EMBO J* 20:1715–25. doi: 10.1093/emboj/20.7.1715
- Martínez C. G (2011a) El ganado Criollo colombiano Blanco Orejinegro (BON). *Anim Genet Resour Inf* 9:27–35. doi: 10.1017/S1014233900003175
- Martínez C. G (2011b) El ganado Criollo Romosinuano (Romo). *Anim Genet Resour Inf* 24:1–11. doi: 10.1017/S1014233900001097
- Martínez R, Gallego J, Onofre G, Pérez J and Vasquez R (2011) Evaluación de la variabilidad y potencial genético de poblaciones de bovinos Criollos colombianos. *Anim Genet Resour Inf* 44:57–66. doi: 10.1017/S1014233900002868
- Martínez R, Gómez Y and Rocha JFM (2014) Genome-wide association study on growth traits in Colombian creole breeds and crossbreeds with Zebu cattle. *Genet Mol Res* 13:6420–6432. doi: 10.4238/2014.August.25.5
- Matsui T, Kanai-Azuma M, Hara K, Matoba S, Hiramatsu R, Kawakami H, Kurohmaru M, Koopman P and Kanai Y (2006) Redundant roles of Sox17 and Sox18 in postnatal angiogenesis in mice. *J Cell Sci* 119:3513–26. doi: 10.1242/jcs.03081
- Matukumalli LK, Lawley CT, Schnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, O’Connell J, Moore SS, Smith TPL, Sonstegard TS et al. (2009) Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS One* 4:e5350. doi: 10.1371/journal.pone.0005350
- McClure MC, Morsci NS, Schnabel RD, Kim JW, Yao P, Rolf MM, McKay SD, Gregg SJ, Chapple RH, Northcutt SL et al. (2010) A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, post-natal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. *Anim Genet* 41:597–607. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02063.x
- McPherron AC, Lawler AM and Lee S-J (1997) Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- $\beta$  superfamily member. *Nature* 387:83–90. doi: 10.1038/387083a0
- Megeney LA and Rudnicki MA (1995) Determination versus differentiation and the MyoD family of transcription factors. *Biochem Cell Biol* 73:723–732. doi: 10.1139/o95-080
- Mercier MS, Lodge D, Fang G, Nicolas CS, Collett VJ, Jane DE, Collingridge GL and Bortolotto ZA (2013) Characterisation of an mGlu8 receptor-selective agonist and antagonist in the lateral and medial perforant path inputs to the dentate gyrus. *Neuropharmacology* 67:294–303. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.11.020
- Meuwissen T, Hayes B and Goddard M (2013) Accelerating improvement of livestock with genomic selection. *Annu Rev Anim Biosci* 1:221–37. doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103705
- Meuwissen THE (2009) Accuracy of breeding values of “unrelated” individuals predicted by dense SNP genotyping. *Genet Sel Evol* 41:35. doi: 10.1186/1297-9686-41-35

- Meuwissen THE, Hayes BJ and Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819–1829. doi: 11290733
- Miller S (2010) Genetic improvement of beef cattle through opportunities in genomics. *Rev Bras Zootec* 39:247–255. doi: 10.1590/S1516-35982010001300027
- Misztal I, Aggrey SE and Muir WM (2013) Experiences with a single-step genome evaluation. *Poult Sci* 92:2530–4. doi: 10.3382/ps.2012-02739
- Misztal I, Legarra A and Aguilar I (2009) Computing procedures for genetic evaluation including phenotypic, full pedigree, and genomic information. *J Dairy Sci* 92:4648–55. doi: 10.3168/jds.2009-2064
- Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Druet T and Lee DH (2002) BLUPF90 and related programs (BGF90). Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier: INRA, pp 21–22
- Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Oshima M, Takagi H, Miyagi S, Endoh M, Endo TA, Takayama N, Eto K, Toyoda T et al. (2013) Role of SOX17 in hematopoietic development from human embryonic stem cells. *Blood* 121:447–58. doi: 10.1182/blood-2012-05-431403
- Nakayama T, Higuchi T, Oiso N, Kawada A and Yoshie O (2012) Expression and function of FRA2/JUND in cutaneous T-cell lymphomas. *Anticancer Res* 32:1367–73.
- NCBI (2016) National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>. Accessed 17 Mar 2016
- Neufeld G, Cohen T, Shraga N, Lange T, Kessler O and Herzog Y (2002) The neuropilins: multifunctional semaphorin and VEGF receptors that modulate axon guidance and angiogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 12:13–9.
- Nicolazzi EL, Biffani S, Biscarini F, Orozco Ter Wengel P, Caprera A, Nazzicari N and Stella A (2015) Software solutions for the livestock genomics SNP array revolution. *Anim Genet* 46:343–353. doi: 10.1111/age.12295
- Nijnik A, Clare S, Hale C, Raisen C, McIntyre RE, Yusa K, Everitt AR, Mottram L, Podrini C, Lucas M et al. (2012) The critical role of histone H2A-deubiquitinase Mym1 in hematopoiesis and lymphocyte differentiation. *Blood* 119:1370–9. doi: 10.1182/blood-2011-05-352666
- Nishimura S, Watanabe T, Mizoshita K, Tatsuda K, Fujita T, Watanabe N, Sugimoto Y and Takasuga A (2012) Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. *BMC Genet* 13:40. doi: 10.1186/1471-2156-13-40
- Nkrumah JD, Li C, Yu J, Hansen C, Keisler DH and Moore SS (2005) Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *J Anim Sci* 83:20–28. doi: /2005.83120x
- Ossa GA, Narváez HJ, Noriega JG, Pérez JE and Vergara O (2014) Parámetros y tendencias genéticas para características de crecimiento en una población de ganado Criollo Romosinuano. *Livest Res Rural Dev* 26:<http://www.lrrd.org/lrrd26/10/ossa26191.html>.
- Pacek M, Tutter A V, Kubota Y, Takisawa H and Walter JC (2006) Localization of MCM2-7, Cdc45, and GINS to the site of DNA unwinding during eukaryotic DNA replication. *Mol Cell* 21:581–7. doi: 10.1016/j.molcel.2006.01.030
- Pausch H, Flisikowski K, Jung S, Emmerling R, Edel C, Götz K-U and Fries R (2011) Genome-wide association study identifies two major loci affecting calving ease and growth-related traits in cattle. *Genetics* 187:289–97. doi: 10.1534/genetics.110.124057
- Pereira AP, Alencar MM de, Oliveira HN de and Regitano LC de A (2005) Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. *Genet Mol Biol* 28:230–236. doi: 10.1590/S1415-47572005000200009

Pérez O'Brien AM, Mészáros G, Utsunomiya YT, Sonstegard TS, Garcia JF, Van Tassell CP, Carneiro R, da Silva MVB and Sölkner J (2014) Linkage disequilibrium levels in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using medium and high density SNP chip data and different minor allele frequency distributions. *Livest Sci* 166:121–132. doi: 10.1016/j.livsci.2014.05.007

Peters SO, Kizilkaya K, Garrick DJ, Fernando RL, Reedy JM, Weaber RL, Silver G a. and Thomas MG (2012) Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in brangus heifers. *J Anim Sci* 90:3398–3409. doi: 10.2527/jas.2012-4507

Phan LK, Chung WK and Leibel RL (2006) The mahoganoid mutation (*Mgn1md*) improves insulin sensitivity in mice with mutations in the melanocortin signaling pathway independently of effects on adiposity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E611–20. doi: 10.1152/ajpendo.00034.2006

Piccoli ML, Braccini J, Cardoso FF, Sargolzaei M, Larmer SG and Schenkel FS (2014) Accuracy of genome-wide imputation in Braford and Hereford beef cattle. *BMC Genet* 15:1275. doi: 10.1186/s12863-014-0157-9

Pilz RB and Broderick KE (2005) Role of cyclic GMP in gene regulation. *Front Biosci* 10:1239–68.

Piva R, Manfredini C, Lambertini E, Torreggiani E, Penolazzi L, Gambari R, Pastore A, Pelucchi S, Gabusi E, Piacentini A et al. (2011) Slug contributes to the regulation of CXCL12 expression in human osteoblasts. *Exp Cell Res* 317:1159–68. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.12.011

Porto Neto LR, Bunch RJ, Harrison BE and Barendse W (2012) Variation in the *XKR4* gene was significantly associated with subcutaneous rump fat thickness in indicine and composite cattle. *Anim Genet* 43:785–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02330.x

Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ et al. (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81:559–75. doi: 10.1086/519795

Quirós PM, Ramsay AJ, Sala D, Fernández-Vizarrá E, Rodríguez F, Peinado JR, Fernández-García MS, Vega JA, Enríquez JA, Zorzano A et al. (2012) Loss of mitochondrial protease OMA1 alters processing of the GTPase OPA1 and causes obesity and defective thermogenesis in mice. *EMBO J* 31:2117–33. doi: 10.1038/emboj.2012.70

Ricke RM and Bielinsky A-K (2004) Mcm10 regulates the stability and chromatin association of DNA polymerase- $\alpha$ . *Mol Cell* 16:173–85. doi: 10.1016/j.molcel.2004.09.017

Robakowska-Hyzorek D, Oprzadek J, Zelazowska B, Olbromski R and Zwierzchowski L (2010) Effect of the g.-723G-->T polymorphism in the bovine myogenic factor 5 (*Myf5*) gene promoter region on gene transcript level in the longissimus dorsi muscle and on meat traits of Polish Holstein-Friesian cattle. *Biochem Genet* 48:450–64. doi: 10.1007/s10528-009-9328-1

Robinson PA, Brown S, Grath MJMC, Coghill ID, Gurung R, Mitchell CA, Paul A, Brown S, Meagan J, Coghill ID et al. (2003) Skeletal muscle LIM protein 1 regulates integrin-mediated myoblast adhesion, spreading, and migration. *Am J Physiol* 284:681–695. doi: 10.1152/ajpcell.00370.2002

Rolf MM, Taylor JF, Schnabel RD, McKay SD, McClure MC, Northcutt SL, Kerley MS and Weaber RL (2010) Impact of reduced marker set estimation of genomic relationship matrices on genomic selection for feed efficiency in Angus cattle. *BMC Genet* 11:24. doi: 10.1186/1471-2156-11-24

Saatchi M, Beever JE, Decker JE, Faulkner DB, Freetly HC, Hansen SL, Yampara-Iquise H, Johnson KA, Kachman SD, Kerley MS et al. (2014) QTLs associated with dry matter intake, metabolic mid-test weight, growth and feed efficiency have little overlap across 4 beef cattle studies. *BMC Genomics* 15:1004. doi: 10.1186/1471-2164-15-1004

Sabaliauskas N, Shen H, Homanics GE, Smith SS and Aoki C (2012) Knockout of the  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor subunit  $\alpha 4$  reduces functional  $\delta$ -containing extrasynaptic receptors in hippocampal pyramidal cells at the onset of puberty. *Brain Res* 1450:11–23. doi: 10.1016/j.brainres.2012.02.035

Sargolzaei M, Chesnais JP and Schenkel FS (2014) A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. *BMC Genomics* 15:478. doi: 10.1186/1471-2164-15-478

- Sargolzaei M, Schenkel FS, Jansen GB and Schaeffer LR (2008) Extent of linkage disequilibrium in Holstein cattle in North America. *J Dairy Sci* 91:2106–17. doi: 10.3168/jds.2007-0553
- Sarti FM, Lasagna E, Ceccobelli S, Di Lorenzo P, Filippini F, Sbarra F, Giontella A, Pieramati C and Panella F (2014) Influence of single nucleotide polymorphisms in the myostatin and myogenic factor 5 muscle growth-related genes on the performance traits of Marchigiana beef cattle. *J Anim Sci* 92:3804–10. doi: 10.2527/jas.2014-7669
- Schaeffer LR (2006) Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *J Anim Breed Genet* 123:218–23. doi: 10.1111/j.1439-0388.2006.00595.x
- Schmidt C, Bladt F, Goedecke S, Brinkmann V, Zschiesche W, Sharpe M, Gherardi E and Birchmeier C (1995) Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 373:699–702. doi: 10.1038/373699a0
- Schneider C, King RM and Philipson L (1988) Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell* 54:787–93.
- Schopen GCB, Visker MHPW, Koks PD, Mullaart E, van Arendonk JAM and Bovenhuis H (2011) Whole-genome association study for milk protein composition in dairy cattle. *J Dairy Sci* 94:3148–58. doi: 10.3168/jds.2010-4030
- Sellak H, Lincoln TM and Choi C-S (2011) Stabilization of cGMP-dependent protein kinase G (PKG) expression in vascular smooth muscle cells: contribution of 3'UTR of its mRNA. *J Biochem* 149:433–41. doi: 10.1093/jb/mvr003
- Servin B and Stephens M (2007) Imputation-based analysis of association studies: candidate regions and quantitative traits. *PLoS Genet* 3:e114. doi: 10.1371/journal.pgen.0030114
- Shanado Y, Kometani M, Uchiyama H, Koizumi S and Teno N (2004) Lysophospholipase I identified as a ghrelin deacylation enzyme in rat stomach. *Biochem Biophys Res Commun* 325:1487–94. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.10.193
- Sharma A, Lee JS, Dang CG, Sudrajad P, Kim HC, Yeon SH, Kang HS and Lee S-H (2015) Stories and Challenges of Genome Wide Association Studies in Livestock - A Review. *Asian-Australasian J Anim Sci* 28:1371–9. doi: 10.5713/ajas.14.0715
- Shibata M, Matsumoto K, Aikawa K, Muramoto T, Fujimura S and Kadowaki M (2006) Gene expression of myostatin during development and regeneration of skeletal muscle in Japanese Black Cattle. *J Anim Sci* 84:2983–9. doi: 10.2527/jas.2006-118
- Shimojo T, Hiroe M, Ishiyama S, Ito H, Nishikawa T and Marumo F (1999) Nitric oxide induces apoptotic death of cardiomyocytes via a cyclic-GMP-dependent pathway. *Exp Cell Res* 247:38–47. doi: 10.1006/excr.1998.4310
- Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn L a., McDanel T, Smith TPL, Sonstegard TS, Thallman RM and Bennett GL (2010) Genome-wide association study of growth in crossbred beef cattle. *J Anim Sci* 88:837–848. doi: 10.2527/jas.2009-2257
- Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn LA, Thallman RM, Bennett GL, Ferrell CL, Jenkins TG, Freetly HC, Nielsen MK et al. (2011) Partial-genome evaluation of postweaning feed intake and efficiency of crossbred beef cattle. *J Anim Sci* 89:1731–41. doi: 10.2527/jas.2010-3526
- Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G and Klagsbrun M (1998) Neuropilin-1 Is Expressed by Endothelial and Tumor Cells as an Isoform-Specific Receptor for Vascular Endothelial Growth Factor. *Cell* 92:735–745. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81402-6
- Stone RT, Kappes SM and Beattie CW (1996) The bovine homolog of the obese gene maps to Chromosome 4. *Mamm Genome* 7:399–400. doi: 10.1007/s003359900119
- Suemoto H, Muragaki Y, Nishioka K, Sato M, Ooshima A, Itoh S, Hatamura I, Ozaki M, Braun A, Gustafsson E et al. (2007) Trps1 regulates proliferation and apoptosis of chondrocytes through Stat3 signaling. *Dev Biol* 312:572–81. doi: 10.1016/j.ydbio.2007.10.001

Sulpice E, Plouët J, Bergé M, Allanic D, Tobelem G and Merkulova-Rainon T (2008) Neuropilin-1 and neuropilin-2 act as coreceptors, potentiating proangiogenic activity. *Blood* 111:2036–45. doi: 10.1182/blood-2007-04-084269

Surmann-Schmitt C, Dietz U, Kireva T, Adam N, Park J, Tagariello A, Onnerfjord P, Heinegård D, Schlötzer-Schrehardt U, Deutzmann R et al. (2008) Ucma, a novel secreted cartilage-specific protein with implications in osteogenesis. *J Biol Chem* 283:7082–93. doi: 10.1074/jbc.M702792200

Tagariello A, Luther J, Streiter M, Didt-Kozziel L, Wuelling M, Surmann-Schmitt C, Stock M, Adam N, Vortkamp A and Winterpacht A (2008) Ucma--A novel secreted factor represents a highly specific marker for distal chondrocytes. *Matrix Biol* 27:3–11. doi: 10.1016/j.matbio.2007.07.004

te Pas MF, Harders FL, Soumillion A, Born L, Buist W and Meuwissen TH (1999) Genetic variation at the porcine MYF-5 gene locus. Lack Of association with meat production traits. *Mamm Genome* 10:123–7.

Thomas M, Langley B, Berry C, Sharma M, Kirk S, Bass J and Kambadur R (2000) Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *J Biol Chem* 275:40235–43. doi: 10.1074/jbc.M004356200

Thomas NK, Wright RA, Howson PA, Kingston AE, Schoepp DD and Jane DE (2001) (S)-3,4-DCPG, a potent and selective mGlu8a receptor agonist, activates metabotropic glutamate receptors on primary afferent terminals in the neonatal rat spinal cord. *Neuropharmacology* 40:311–8.

Thompson R and Mäntysaari E (1999) Prospects for Statistical Methods in Dairy Cattle Breeding. *Interbull Bull* 20:70–79.

Tiezzi F, Parker-Gaddis KL, Cole JB, Clay JS and Maltecca C (2015) A genome-wide association study for clinical mastitis in first parity US Holstein cows using single-step approach and genomic matrix re-weighting procedure. *PLoS One* 10:e0114919. doi: 10.1371/journal.pone.0114919

Turner SD (2014) qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots. *bioRxiv*. doi: 10.1101/005165

Uehara Y, Minowa O, Mori C, Shiota K, Kuno J, Noda T and Kitamura N (1995) Placental defect and embryonic lethality in mice lacking hepatocyte growth factor/scatter factor. *Nature* 373:702–5. doi: 10.1038/373702a0

UniProt (2016) UniProt. <http://www.uniprot.org/>. Accessed 17 Mar 2016

Van Tassell CP, Smith TPL, Matukumalli LK, Taylor JF, Schnabel RD, Lawley CT, Haudenschild CD, Moore SS, Warren WC and Sonstegard TS (2008) SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. *Nat Methods* 5:247–52. doi: 10.1038/nmeth.1185

VanRaden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. *J Dairy Sci* 91:4414–23. doi: 10.3168/jds.2007-0980

VanRaden PM, O'Connell JR, Wiggans GR and Weigel KA (2011) Genomic evaluations with many more genotypes. *Genet Sel Evol* 43:10. doi: 10.1186/1297-9686-43-10

Vásquez R, Martínez R, Rodríguez O, Ballesteros H, Ossa G, Abuabara Y, Pérez J, Neira J, Onofre G, Polanco N et al. (2007) Manual de conservación, multiplicación y mejoramiento de las razas bovinas Criollas colombianas, 1ra ed. Produmedios, Mosquera (Cundinamarca)

Visscher PM, Macgregor S, Benyamin B, Zhu G, Gordon S, Medland S, Hill WG, Hottenga J-J, Willemsen G, Boomsma DI et al. (2007) Genome partitioning of genetic variation for height from 11,214 sibling pairs. *Am J Hum Genet* 81:1104–10. doi: 10.1086/522934

Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A, Fernando RL, Vitezica Z, Okimoto R, Wing T, Hawken R and Muir WM (2014) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. *Front Genet* 5:1–10. doi: 10.3389/fgene.2014.00134

- Wang H, Misztal I, Aguilar I, Legarra A and Muir WM (2012) Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. *Genet Res (Camb)* 94:73–83. doi: 10.1017/S0016672312000274
- Wang T, Nandakumar V, Jiang X-X, Jones L, Yang A-G, Huang XF and Chen S-Y (2013) The control of hematopoietic stem cell maintenance, self-renewal, and differentiation by Mym1-mediated epigenetic regulation. *Blood* 122:2812–22. doi: 10.1182/blood-2013-03-489641
- Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, Franz M, Grouios C, Kazi F, Lopes CT et al. (2010) The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res* 38:W214–20. doi: 10.1093/nar/gkq537
- Wechsler T, Chen BPC, Harper R, Morotomi-Yano K, Huang BCB, Meek K, Cleaver JE, Chen DJ and Wabl M (2004) DNA-PKcs function regulated specifically by protein phosphatase 5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:1247–52. doi: 10.1073/pnas.0307765100
- Wehner M, Clemens PR, Engel AG and Killmann MW (1994) Human muscle glycogenesis due to phosphorylase kinase deficiency associated with a nonsense mutation in the muscle isoform of the  $\alpha$  subunit. *Hum Mol Genet* 3:1983–1987. doi: 10.1093/hmg/3.11.1983
- Wheeler MT and McNally EM (2003) Sarcoglycans in vascular smooth and striated muscle. *Trends Cardiovasc Med* 13:238–43.
- Wiggans GR, VanRaden PM, Bacheller LR, Tooker ME, Hutchison JL, Cooper T a and Sonstegard TS (2010) Selection and management of DNA markers for use in genomic evaluation. *J Dairy Sci* 93:2287–2292. doi: 10.3168/jds.2009-2773
- Wilcox MD, Schey KL, Busman M and Hildebrandt JD (1995) Determination of the complete covalent structure of the gamma 2 subunit of bovine brain G proteins by mass spectrometry. *Biochem Biophys Res Commun* 212:367–74. doi: 10.1006/bbrc.1995.1979
- Winkelman a. M, Johnson DL and Harris BL (2015) Application of genomic evaluation to dairy cattle in New Zealand. *J Dairy Sci* 98:659–675. doi: 10.3168/jds.2014-8560
- Wong LE, Reynolds AB, Dissanayaka NT and Minden A (2010) p120-catenin is a binding partner and substrate for Group B Pak kinases. *J Cell Biochem* 110:1244–54. doi: 10.1002/jcb.22639
- Woods SC (1998) Signals That Regulate Food Intake and Energy Homeostasis. *Science* (80- ) 280:1378–1383. doi: 10.1126/science.280.5368.1378
- Wrann CD, Eguchi J, Bozec A, Xu Z, Mikkelsen T, Gimble J, Nave H, Wagner EF, Ong S-E and Rosen ED (2012) FOSL2 promotes leptin gene expression in human and mouse adipocytes. *J Clin Invest* 122:1010–21. doi: 10.1172/JCI58431
- Wu S, Grunwald T, Kharitonov A, Dam J, Jockers R and De Luca F (2013) Increased expression of fibroblast growth factor 21 (FGF21) during chronic undernutrition causes growth hormone insensitivity in chondrocytes by inducing leptin receptor overlapping transcript (LEPROT) and leptin receptor overlapping transcript-like 1 (LE). *J Biol Chem* 288:27375–83. doi: 10.1074/jbc.M113.462218
- You Z, Komamura Y and Ishimi Y (1999) Biochemical analysis of the intrinsic Mcm4-Mcm6-mcm7 DNA helicase activity. *Mol Cell Biol* 19:8003–15.
- Yuan ZR and Xu SZ (2011) Novel SNPs of the bovine CACNA2D1 gene and their association with carcass and meat quality traits. *Mol Biol Rep* 38:365–70. doi: 10.1007/s11033-010-0117-z
- Yun EJ and Vu TH (2012) mSmile is necessary for bronchial smooth muscle and alveolar myofibroblast development. *Anat Rec (Hoboken)* 295:167–76. doi: 10.1002/ar.21475
- 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. doi: 10.1186/2049-1891-3-26
- Zhao F-Q, McFadden TB, Wall EH, Dong B and Zheng Y-C (2005) Cloning and expression of bovine sodium/glucose cotransporter SGLT2. *J Dairy Sci* 88:2738–48. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72953-2

---

Zimin A V, Delcher AL, Florea L, Kelley DR, Schatz MC, Puiu D, Hanrahan F, Pertea G, Van Tassell CP, Sonstegard TS et al. (2009) A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biol* 10:R42. doi: 10.1186/gb-2009-10-4-r42

Zondervan KT and Cardon LR (2004) The complex interplay among factors that influence allelic association. *Nat Rev Genet* 5:89–100. doi: 10.1038/nrg1270

## 4. Discusión, conclusiones y recomendaciones

### 4.1 Discusión

En esta sección se realiza un análisis más detallado de las regiones genómicas de interés asociadas con rasgos de crecimiento que fueron identificadas en las razas de ganado BON y ROMO, se incluye datos de QTL relacionados con rasgos de interés productivo que han sido reportados previamente en la literatura, y su relación con los genes encontrados dentro o cerca de las regiones de interés identificadas en este estudio. Para facilitar la interpretación y la discusión de los resultados, se realizó un análisis para QTLs relacionados y ontología de genes por regiones de interés dentro de cada cromosoma.

**Análisis regiones de interés BTA2 Y BTA3:** estos dos cromosomas son importantes porque contienen una gran cantidad de QTLs y genes relacionados con el desempeño del ganado de leche y de carne. De acuerdo con los resultados de este estudio, en el BTA2 de la raza ROMO se identificó tres regiones de interés, dos asociadas con P24m y otra región relacionada con P16m, la primera región (2:4,12-4,24 Mb) explica el 0,16% gVar del P24m, y está incluida dentro de un QTL (2:2,7-5,3 Mb) que fue reportado por Casas et al. (1998), relacionado con peso al nacimiento en ganado de carne, en esta misma región Imumorin et al. (2011) reporta dos QTLs (2:2.7-4.4 Mb y 2:3.9-4.4 Mb), el primero asociado con peso al destete y el segundo asociado con peso corporal al año y peso al sacrificio en animales Angus x Brahmán. De acuerdo con la base de datos de NCBI, dentro de esta región existe anotaciones para tres genes, que a la fecha no cumplen una función relacionada de manera directa con características de crecimiento en animales, sin embargo, es importante resaltar que a 1,97 Mb en dirección 3' se ha mapeado el gen MSTN (*Myostatin*) (2:6,21-6,22 Mb), se ha demostrado que la Miostatina, también llamado factor 8 de crecimiento y diferenciación, es un regulador negativo del crecimiento del músculo (McPherron et al. 1997; Thomas et al. 2000), varias investigaciones han encontrado que mutaciones presentes en este gen están asociadas con la inhibición de la expresión de la Miostatina,

generando una condición fenotípica que se conoce como doble musculatura, que se caracteriza por un aumento sustancial de la masa muscular esquelética en el ganado bovino y en otras especies (Kambadur et al. 1997; McPherron and Lee 1997; Thomas et al. 2000; Lee and McPherron 2001). Si bien, existe una distancia importante entre la región de interés identificada en este estudio y el gen de la Miostatina, dada la tasa de LD encontrada en esta raza, es posible que algunos SNP presentes en esta región segreguen de manera conjunta con algún tipo de polimorfismo presente en el gen MSTN que afecta el crecimiento muscular en la raza ROMO, sin embargo, esta posible asociación debe ser validada con estudios más específicos.

En este mismo cromosoma y para la misma raza se encontró una segunda región (2:108,79-108,87 Mb) asociada con P24m (0,17% gVar), en esta región Bolormaa et al. (2011b) encontró 3 SNP (2: 109 Mb) con efecto significativo para consumo residual de alimento, promedio de ganancia diaria y consumo de alimento diario en razas de carne. En cuanto a genes asociados, para esta región se encontró una anotación que corresponde a un gen no caracterizado, sin función conocida, derivado de un análisis computacional automatizado, utilizando un método de predicción de genes (BestRefSeq). Sin embargo, a 3,4 Mb en dirección 5' de esta región se han mapeado dos genes importantes, el gen IGFBP2 (2:105,33-105,37 Mb) y el gen IGFBP5 (2:105,37-105,39 Mb), que corresponden a las proteínas dos y cinco de unión a IGFs (IGFBP - *Insulin-like growth factor binding protein*), la biodisponibilidad de IGFs, está regulada por este tipo de proteínas, que afectan su vida promedio en circulación, regulan la velocidad de transporte de IGF a través del endotelio vascular y controlan su presentación a los receptores dentro de los tejidos (Jones and Clemmons 1995; Clempson et al. 2012), estos genes están directamente relacionados con la regulación del sistema de factores de crecimiento Insulinicos (IGFs), afectando la homeostasis de la energía y subsecuentemente el desempeño de los animales (Chagas et al. 2007; Velazquez et al. 2008), a pesar de que existe una distancia importante (3,4 Mb) entre estos genes y la región de interés, estas son las únicas anotaciones de genes relacionados con la regulación del crecimiento ubicados cerca de esta región. En el BTA2 de la raza ROMO se encontró una tercera región de interés (2:78,30-78,41 Mb) asociada con P16m (0,23% gVar), que coincide con un QTL (2:49.3-85.1 Mb) relacionado con el peso al nacimiento en la raza Angus (McClure et al. 2010), para esta región se encontró una única anotación que corresponde a un gen no caracterizado, sin función conocida.

Por su parte, en el BTA3 se encontró dos regiones de interés, la primer región (3:79,48-79,58 Mb) está asociada con PN en la raza BON (0,19 gVar%), y está incluida dentro un QTL (3:78.3-83.2 Mb) con efecto sobre el peso al nacimiento en animales Angus y Brahmán (Kim et al. 2003; Imumorin et al. 2011), también Nkrumah et al. (2007) encontró un QTL (3:79.3-79.5 Mb) asociado con consumo de materia seca en animales Angus y Charolais, cerca de esta región Bolormaa et al. (2013) identifico un SNP (80,10 Mb) con efecto sobre el peso vivo medido a la salida de corrales feedlot para animales *B. Taurus* y *B. Indicus*. En esta región se encontró anotaciones para cuatro genes, incluyendo el gen LEPR (3:80,07-80,17 Mb), que codifica para una proteína que se expresa en el tejido adiposo, la cual se ha identificado como el receptor de la Leptina, cumpliendo un rol importante en la regulación del apetito, el almacenamiento y metabolismo energético y la composición corporal de los mamíferos (Houseknecht and Portocarrero 1998; de Luis Roman et al. 2006; Lu et al. 2007). En bovinos variaciones (SNP) presentes en el gen LEPR se han asociado con concentración sérica de Leptina, producción de leche, parámetros de engrasamiento y características de crecimiento (Liefers et al. 2004; Schenkel et al. 2006; Komisarek and Dorynek 2006; Guo et al. 2008; Trakovická et al. 2013). Cerca de esta región también se ha mapeado el gen LEPROT (Leptin receptor overlapping transcript) (3:80,24-80,26 Mb) que codifica para una proteína transmembrana que participan en la regulación del tráfico intracelular de proteínas (Belgareh-Touzé et al. 2002), se ha encontrado que este gen interviene en la modulación de la sensibilidad hepática a la hormona del crecimiento (GH), en respuesta a cambios en la disponibilidad de alimento, afectando los procesos fisiológicos asociados al eje GH - IGF1 (Wu et al. 2013), se ha sugerido que la regulación de este tipo de genes puede constituir un vínculo molecular entre las señales nutricionales y las acciones de la GH en el crecimiento corporal y el metabolismo (Touvier et al. 2009; Wu et al. 2013).

La segunda región de interés identificada en el BTA3 (3:87,80-87,91 Mb) está asociada con PD en la raza ROMO (0,16 gVar%), y está incluida dentro de un QTL (3:86.5-97.5Mb) relacionado con peso al nacimiento en la raza Holstein (Sugimoto et al. 2012), cerca de esta región (3:84-85 Mb) Bolormaa et al. (2011) encontró varios SNP asociados de manera significativa con consumo residual de alimento (4 SNP), promedio de ganancia diaria (2 SNP) y peso corporal metabólico (3 SNP) en un GWAS realizado en ganado carne. Para esta región se encontró anotaciones de varios genes, que pueden ser de interés, como el gen MYSM1 (3: 87,92-87,97 Mb) que se ha asociado con el control de la hematopoyesis en

la médula ósea y la diferenciación de linfocitos (Nijnik et al. 2012; Wang et al. 2013), igual el gen TACSTD2 (3: 88,03-88,04 Mb) que en humanos se ha relacionado con el crecimiento postnatal y el contenido de grasa corporal durante la infancia (Groom et al. 2012), cerca de esta región también se encuentra el gene OMA1 (OMA1 zinc metallopeptidase) (3: 88,05-88,12 Mb) que en humanos y ratones está asociado con el metabolismo de la grasa y la homeostasis energética (Head et al. 2009; Quirós et al. 2012), es posible que uno o varios de estos genes intervengan en la regulación del crecimiento en animales de la raza ROMO.

**Análisis regiones de interés BTA4:** el análisis de asociación permitió identificar dentro del BTA4 cuatro regiones con efecto significativo, asociadas con varias de las características evaluadas en las dos razas, en el caso de la raza ROMO se encontró tres regiones importantes, la primera es una región (4:20,39-20,51 Mb) que tiene una asociación importante con dos de las características evaluadas, PD (0,30% gVar) y P16m (0,25% gVar), esta región coincide con varios QTL relacionados con características de crecimiento y consumo residual de alimento en ganado de carne (Casas et al. 2001; Sherman et al. 2009; McClure et al. 2010) (Anexo A). Cerca de esta región se encontró anotaciones para cuatro genes, de los cuales puede ser iteres el gen TMEM106B (4:19,89-19,92 Mb), que codifica para la proteína de transmembrana 106B, en ratones este gen se ha asociado con variaciones en la masa corporal magra, longitud corporal, grasa corporal, e incrementos del contenido mineral del hueso (International Mouse Phenotyping Consortium 2016) (Bult et al. 2015), pero se requiere estudios adicionales para evaluar la expresión de este gen en bovinos y su posible asociación con rasgos de crecimiento.

La segunda región de interés en el BTA4 de la raza ROMO (4:39,1-39,3 Mb) está asociada con dos de las características evaluadas, PD (0,15 gVar%) y P16m (0,17 gVar%), y está ubicada dentro un QTL (4:32.3-42.0 Mb) relacionado con peso al sacrificio en animales Angus x Brahmán (Imumorin et al. 2011), en la misma región Cai et al. (2013) reporta un QTL (39.1-39.2 Mb) con efecto significativo sobre ganancia diaria de peso y longitud corporal en animales de la raza China Nanyang. Esta región coincide con la ubicación del gen del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (4: 39,11-39,20 Mb), que es uno de los factores celulares multifuncionales que regula la proliferación celular, la motilidad celular y la morfogénesis en mamíferos (Asami et al. 1991; Schmidt et al. 1995; Uehara et al. 1995; Bladt et al. 1995), investigaciones recientes han demostrado que el HGF desempeña un papel importante en la regeneración de órganos, el desarrollo del sistemas nervioso, la angiogénesis y el crecimiento muscular en ratones y humanos (Bladt et al. 1995; Maina and

Klein 1999; Nakamura et al. 2010; Miyazawa 2010; Nakamura et al. 2011), en un estudio realizado por Cai et al. (2013) se encontró que SNPs presentes en este gen se asocian significativamente con características de crecimiento en ganado chino, sugiriendo una asociación importante entre el gen HGF y la expresión de rasgos de crecimiento en el ganado bovino, de acuerdo con los resultados de este estudio el HGF es un posible gen candidato relacionado con la regulación del crecimiento en animales de la raza ROMO. Otro gen importante ubicado cerca de esta región es el gen CACNA2D1 (*Calcium channel, voltage-dependent, alpha-2/delta subunit 1*) (4:38,33-38,86 Mb), que codifica para una proteína accesoria asociada con los canales de calcio dependientes de voltaje (UniProt 2016) (<http://www.uniprot.org/uniprot>), de acuerdo con los resultados de un estudio realizado por Yuan and Xu 2011, existen variaciones (SNP) en el gen CACNA2D1 que están asociadas con características de la carcasa y de calidad de la carne en bovinos, sugiriendo que este es uno de los posibles genes candidatos que influyen en la expresión de este tipo de características.

La tercera región identificada en este cromosoma (4:91,1-91,2 Mpb) está asociada con PN en la raza ROMO (0,28% gVar) y se encuentra muy cerca de la cuarta región de interés (4:92,0-92,2 Mb) que está relacionada con P16m en la raza BON (0,18% gVar), para esta misma región Bolormaa et al. (2011) encontró varios SNP asociados de manera significativa con consumo residual de alimento (2 SNP), promedio de ganancia diaria (4 SNP) y peso corporal metabólico (SNP) en un GWAS realizado para ganado carne. Dentro o cerca de estas dos regiones se encontró anotaciones para 9 genes (Anexo A), de los cuales sólo unos pocos podrían relacionarse directamente con crecimiento, principalmente el gen de la Leptina (LEP) (4:93,24-93,26 Mb) (Stone et al. 1996) que ha sido mapeado a 2,02 y 1,07 Mb en dirección 5', respectivamente, se sabe que la Leptina es una hormona sintetizada y secretada predominantemente por los adipocitos blancos (Zhang et al. 1994; Ji et al. 1998), que funciona como una señal lipostática que regula el peso corporal, la ingesta de alimentos, el gasto de energía, la reproducción, y ciertas funciones del sistema inmunológico (Houseknecht et al. 1998; Lord et al. 1998; Woods 1998; Larsson et al. 1998; Cunningham et al. 1999; Delavaud et al. 2002; Garcia et al. 2002; Nkrumah et al. 2005), en el ganado bovino varios polimorfismos (SNPs) identificados en la región de codificación del gen de la Leptina se han asociado con la concentración de leptina en suero (Liefers et al. 2003; Sadri et al. 2011), también con características de crecimiento (Nkrumah et al. 2005; Lusk 2007; Kulig and Kmiec 2009; Othman et al. 2011), el consumo de alimento (Liefers et

al. 2002; Oprzadek et al. 2003), la producción de leche (Liefers et al. 2002; Buchanan et al. 2003; Anton et al. 2012; Trakovická et al. 2013), el contenido de grasa en la canal (Buchanan et al. 2002; Nkrumah et al. 2005; Choudhary et al. 2005; Fortes et al. 2009; Curi et al. 2011; Sadri et al. 2011) y características reproductivas (Almeida et al. 2003; Chebel and Santos 2011; Trakovická et al. 2013), demostrando que este gen tiene un efecto importante sobre el desempeño productivo del ganado de leche y de carne. También es importante para esta región el gen GRM8 (*glutamate receptor, metabotropic 8*) (4:91,47-92,33 Mb), gen codifica para un tipo de receptor acoplado a proteínas G, a través del cual, el aminoácido L-glutamato pueden modular la transmisión sináptica excitatoria en el sistema nervioso central de los mamíferos, afectando una gran variedad de proceso fisiológicos (Thomas et al. 2001; Mercier et al. 2013), por último se incluye el Gen PAX4 (paired box 4) (4:92,64-92,65 Mb) que en estudios realizados con modelos animales se encontró asociado con un incremento de células secretoras de ghrelina y de células secretoras de glucagón (Djiotsa et al. 2012), teniendo en cuenta que ghrelina es una hormona que estimula la secreción de la hormona del crecimiento (GH) en la hipófisis, e interviene en la regulación del metabolismo energético y en la composición corporal (Tschöp et al. 2000; Nakazato et al. 2001; Shintani et al. 2001; Itoh et al. 2005; Wertz-Lutz et al. 2010; Börner et al. 2013), el gen PAX4 puede ser considerado como un posible gen candidato asociado con la regulación del crecimiento en ganado bovino, pero se requiere evaluar la expresión de este gen en bovinos, y su posible asociación con un incremento de células secretoras de ghrelina.

**Análisis regiones de interés BTA5:** en el BTA5 se encontró 8 regiones importantes asociadas con varias de las características evaluadas en las dos razas, en el caso de la raza ROMO se identificó cuatro regiones con efecto importante ( $\geq 0,15\%$  gVar) para PN, PD, P16m y P24m, por su parte en la raza BON las regiones de interés presentaron un efecto moderado ( $\leq 0,15\%$  gVar) para PN, P16m y P24m.

En el BTA 5 de la raza ROMO se encontró tres regiones que presentan una asociación importante con PN, la primera región (5:2,09-2,20 Mb) asociada con esta característica (0,15% gVar) coincide con un QTL (5:1.6-4.5 Mb) relacionado con ganancia promedio de peso en ganado de carne, que fue reportado por Li et al. (2002). Para esta región existen una única anotación que corresponde al gen TRHDE (*thyrotropin-releasing hormone degrading enzyme*) (5:1,9-2,3 Mb), este gen está relacionado con una enzima que degrada la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), si bien, en la literatura no existe reportes

relacionados con la expresión de este gen en animales de granja, teniendo en cuenta que la TRH es un neuropéptido que regula el eje hipotálamo-hipófisis-tiroideo controlando la homeostasis energética y el consumo de alimento en animales modelo (de Gortari et al. 2012), este podría ser un gen candidato para evaluar, posiblemente relacionado con la regulación del crecimiento en el ganado bovino.

La segunda región (5: 6,46-6,55 Mb) relacionada con peso PN en la raza Romo (0,17% gVar), está incluida dentro de un QTL (5:4.5-9.5 Mb) reportado también por Li et al. (2002), que está asociado con ganancia promedio de peso pre y pos destete. En esta región se encontró anotaciones para tres genes, que incluyen el gen CSRP2 (*cysteine and glycine rich protein 2*) (5: 6,26-6,28 Mb) que codifica para una proteína rica en cisteína expresada en el músculo liso vascular y cardíaco de ratones, esta proteína interactúa en el núcleo de los miocitos con factores de crecimiento y factores de transcripción para mediar en la expresión de genes relacionados con el funcionamiento y la multiplicación de este tipo de células (Chang et al. 2007; Lin et al. 2008), no existe en la literatura reportes de la expresión de este gen en otro tipo de tejidos, como el músculo estriado, por lo cual se requieren estudios adicionales para evaluar su posible asociación con rasgos de crecimiento en ganado bovino.

La tercera región de interés (5:10,5-10,7 Mb) con efecto para PN en la raza ROMO (0,17% gVar) coincide con dos QTL asociados con peso al nacimiento y peso al destete en ganado de carne (Li et al. 2002; McClure et al. 2010). Para esta región se encontró anotaciones de 3 genes, siendo de interés el gene *Myf5 (myogenic factor 5)* y el gen *Myf6 (myogenic factor 6 (herculin))* (5: 10,33-10,35) que hacen parte de un grupo de factores de regulación miogénica (MFR), que controlan la diferenciación del músculo esquelético (Braun et al. 1989; Braun et al. 1990), son reconocidos por regular la miogénesis a través de la formación de fibras musculares, durante la embriogénesis se expresan en los mioblastos antes de la diferenciación, y son necesarios para la activación y proliferación de las células progenitoras musculares (Megeny and Rudnicki 1995; Hughes and Schiaffino 1999; F.W. Te Pas and A. Soumilion 2001; Robakowska-Hyzorek et al. 2010; Sarti et al. 2014), estudios recientes han permitido identificar QTL y polimorfismo (SNP) en el gen *Myf5*, relacionados con variaciones en el desarrollo del tejido muscular en cerdos y bovinos (Megeny and Rudnicki 1995; te Pas et al. 1999; Drögemüller and Kempers 2000; Li et al. 2003; Shibata et al. 2006; Robakowska-Hyzorek et al. 2010; Sarti et al. 2014), por lo cual el gen *Myf5* puede ser

considerado como un posible gen candidato asociado con características de crecimiento en la raza ROMO.

La última región de interés en el BTA5 de la raza ROMO, inicia en 17,9 Mb y finaliza en 18,1 Mb, los SNP evaluados en esta región muestran una fuerte asociación con tres características, PD (0,41% gVar), P16m (0,43% gVar) y P24m (0,45% gVar), y coincide con un QTL (5:13.7-18.4 Mbp) reportado por McClure et al. (2010) asociado con la talla al año y la talla adulta en ganado de carne. Para esta región existen 5 anotaciones de genes, de los cuales, dos pueden estar relacionados con la expresión de rasgos de crecimiento, en primer lugar el gen KITLG (KIT ligand) (5:18,32-18,38 Mb), también conocido como factor de células madre (Mast Cell Growth Factor), de acuerdo con los resultados reportados por Cho et al. (2008) la vía de señalización de KIT / KITLG media la acción del factor de crecimiento de fibroblastos 7 (FGF7) que es un importante regulador del crecimiento de ovocitos bovinos, es posible que este sistema de señalización se exprese en otro tipo de tejidos, regulando el crecimiento en animales de granja. El otro gen importante anotado en esta región es TMT3 (5:17,99-18,05 Mb) que codifica para una proteína de membrana con repeticiones tetratricopeptide, esta familia de proteínas regula el desarrollo de miofibroblastos en los alveolos pulmonares y también en las células del músculo liso bronquial (BSM) (UniProt 2016), en un estudio realizado por Yun and Vu (2012) encontraron que este tipo de proteínas regulan el desarrollo de miofibroblastos a través de la modulación de la señalización del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), sugiriendo que este gen participa en los mecanismos de señalización asociados al crecimiento del tejido muscular, sin embargo es necesario evaluar su expresión en otros tejidos, como los miocitos del músculo estriado, para corroborar la posible asociación de este gen con características de crecimiento en el ganado bovino.

Por su parte en el BTA5 de la raza BON se identificó cuatro regiones de interés, una región con efecto significativo para P24m ( $\geq 0,15\%$  gVar) y tres regiones con efecto moderado ( $\leq 0,15\%$  gVar), estas regiones de efecto moderado contienen una cantidad importante de SNPs, que permiten definir claramente regiones asociadas con varias de las características evaluadas en esta raza, estas regiones están ubicadas en posiciones genómicas diferentes a las descritas en la raza ROMO, con una primera región que inicia en 40,5 Mb y finaliza en 40,6 Mb, con efecto importante para P24m (0,21% gVar), la ubicación de esta región coincide con varios QTLs reportados para características de crecimiento y conformación en

ganado de carne y de leche (Schrooten et al. 2000; Li et al. 2002; Machado et al. 2003; Baeza et al. 2011; Imumorin et al. 2011). En esta región se encontró anotaciones para cuatro genes, de los cuales puede ser de interés el gen CNTN1 (*contactin 1*) (5:39,9-40,4 Mb), que codifica para una proteína de adhesión neural y unión neuromuscular, algunas mutaciones identificadas en este gen se han encontrado asociadas con la presentación de miopatías congénitas en ratones y humanos (Compton et al. 2008), lo que podría sugerir algún tipo de relación del gen CNTN1 con la regulación del desarrollo muscular en animales. Una segunda región (5:57,9-58,3 Mb) con efecto moderado para P16m en la raza BON (0,12% gVar) coincide con dos QTL asociados con peso al nacimiento (5:57,7-58,8 Mb) y peso al sacrificio (5:18.8-60.7 Mb) en animales Angus y Brangus, respectivamente (McClure et al. 2010; Baeza et al. 2011), dentro o muy cerca de esta región se encontraron anotaciones para 21 genes, la mayoría de estos (17) asociados con proteínas de receptores olfativos; si bien la regulación genética del olfato podría ser importante en la cría de ganado, aun no es muy clara la relación que existe, debido a la falta de conocimiento sobre el sistema (Lee et al. 2013a). Otro gen ubicado en esta región es ITGA7 (5:57,8-57,9) que codifica para una proteína transmembrana denominada  $\alpha 7\beta 1$ -integrina, de acuerdo con el estudio de Lueders et al. (2011) la presencia de esta proteína en el músculo esquelético de ratones, aumenta la hipertrofia de las fibras musculares y la síntesis de nuevas fibras como respuesta al ejercicio, sugiriendo que existe una relación importante entre este gen y el desarrollo muscular en animales. También es de interés el gen STAT6 (5:56,65-56,67), se ha encontrado que este gen actúa como mediador de la señalización de la leptina, jugando un papel importante en la regulación del peso corporal, mediante la señalización de la cantidad de tejido adiposo (Maffei et al. 1995a; Maffei et al. 1995b; Ghilardi et al. 1996), de acuerdo con los resultados de un estudio realizado por Rincon et al. (2009) existen polimorfismos en el gen STAT6 asociados con características de crecimiento y rendimiento en canal en razas taurinas de carne, por lo cual, este gen puede ser considerado como un gen candidato asociado con rasgos de crecimiento en la raza BON. Las dos últimas regiones de interés identificadas en el cromosoma 5 de la raza BON, están asociadas con PN, se ubican relativamente cerca, la primera entre 76,7 a 76,8 Mb, y la segunda entre 80,5 a 80,7 Mb, y explican respectivamente el 0,14% y 0,13% de la gVar del PN. No se encontró en la literatura reportes de QTL ubicados dentro o cerca de estas regiones, sin embargo, existen anotaciones para cinco genes, que incluyen el gen SYT10 (*synaptotagmin-10*) (5:76,69-76,81), que codifica para una proteína calcio-dependiente, denominada sinaptotagmina-10, de acuerdo con los resultados del estudio de Cao et al. (2011) la

sinaptotagmina-10, controla el mecanismo de exocitosis de IGF-1 en las neuronas del bulbo olfatorio, sin embargo, teniendo en cuenta que este mecanismo de secreción puede diferir entre tipos de células, se requieren estudios adicionales para evaluar la actividad del gen SYT10 en otros tejidos, como el hígado, que es uno de los principales órganos sintetizadores de IGF-1 (Baker et al. 1993; Liu et al. 1993; Beck et al. 1995).

Es importante resaltar que en el BTA5 bovino también ha sido mapeado el gen IGF1 (insulin-like growth factor 1) (5:66,5-66,6), este gen codifica para una proteína que tiene una función y estructura similar a la de la insulina, y hace parte de una familia de proteínas implicadas en la mediación del crecimiento y el desarrollo de los mamíferos (sistema GH/IGF), participando en la diferenciación celular, la embriogénesis, el crecimiento y la regulación del metabolismo (Baker et al. 1993; Liu et al. 1993; Beck et al. 1995; Tizioto et al. 2012). En animales de granja son de gran importancia los genes que codifican componentes del sistema GH/IGF-1, ya que tienen un papel regulador fundamental en la homeostasis de la energía y subsecuentemente en el desempeño de los animales (Chagas et al. 2007; Velazquez et al. 2008). El sistema GH/IGF comprende, la hormona del crecimiento (GH), dos ligandos (IGF1 y IGF2), dos receptores (IGF1 R, IGF2 R), y seis proteínas de unión a IGF (IGFBP1 a IGFBP6) (Jones and Clemmons 1995; Baumrucker and Erondy 2000). El factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1) se secreta principalmente en el hígado, como resultado de la estimulación de la hormona del crecimiento (GH), luego la unión de IGFs al IGF1 R inicia la auto-fosforilación del receptor y la activación de varias cascadas de señalización que implican las vías de MAPK y Akt que pueden alterar la expresión de genes y subsecuentemente afectar el metabolismo, la proliferación y la diferenciación celular (Dupont et al. 2003). La biodisponibilidad de IGFs está regulada por las IGFBPs que alteran la vida media de los IGFs en la circulación, regulan su velocidad de transporte a través del endotelio vascular y controlan la presentación de IGFs a sus receptores dentro de los tejidos. En bovinos el IGF1 es considerado como un gen candidato relacionado con la tasa de crecimiento y con otras características de producción (Islam et al. 2009), varios estudios han identificado polimorfismos presentes en su región de codificación, que se han asociado con características de crecimiento, reproducción y conformación en diferentes razas de ganado bovino (Pereira et al. 2005; Rhoads et al. 2008; Andrade et al. 2008; Islam et al. 2009; Tizioto et al. 2012), sin embargo, en el presente estudio no se encontró regiones de interés ubicadas dentro o cerca de la región de codificación de este gen, lo que sugiere que en las razas BON y ROMO el conjunto de SNP

incluidos en el Chip de 50K (Illumina Inc. 2016), no presenta marcadores polimórficos ubicados dentro o cerca del gen IGF-1, que permitan detectar la variación asociada a este gen.

**Análisis regiones de interés BTA6, BTA9 y BTA10:** el BTA6 es importante en la raza BON con dos regiones de interés, una región (6:67,17-67,24 Mb) asociada con PD (0,19% gVar) y otra región (6:82,48-82,61 Mb) asociada con PN (0,15% gVar), para estas regiones no se encontró reportes de QTLs asociados con rasgos de crecimiento, pero coincide con un QTL relacionado con el contenido de proteína y de kappa caseína en vacas Holstein y Holstein x Jersey (Huang et al. 2012). En estas regiones se encontró anotaciones para seis genes, que no parecen tener una relación directa con la expresión de rasgos de crecimiento en animales, sin embargo, existen dos genes (GABRA4 y GABRA1) (6:67,14-67,23 Mb) que pueden participar en diferentes procesos celulares y fisiológicos, por estar relacionados con receptores del Ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), que es el principal neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central de mamíferos, el GABA (inhibidor) junto con el glutamato (excitador) regulan la excitabilidad de muchas neuronas en el cerebro y por tanto están implicados en importantes procesos fisiológicos (Sabaliauskas et al. 2012).

En el BTA9 de la raza ROMO se identificó dos regiones de interés, con una primera región (9:24,94-25,06 Mb) asociada con P24m (0,27% gVar), para la cual no existen reportes de QTLs asociados a rasgos de crecimiento, pero coincide con varios QTLs relacionados con producción de leche, contenido de grasa y proteína en vacas Holstein (Wiener et al. 2000; Schnabel et al. 2005; Schopen et al. 2009), la segunda región está asociada con P16m y tiene dos puntos de interés (9:86,79-86,88 Mb que explica el 0,18% gVar y 9:87,68-87,85 Mb que explica el 0,14% gVar), para esta región tampoco se encontró QTLs reportados en la literatura, y a pesar de que existen anotaciones para varios genes ubicados dentro o cerca de estas regiones, hasta el momento las funciones reportadas para estos genes no indican una relación importante con características de crecimiento en animales.

Por su parte, en el BTA 10 de la raza BON, se encontró una región (10:44,36-44,48 Mb) con efecto importante sobre P24m (0,14% gVar), que coincide con un QTL (10:38.4-52.2 Mb) asociado con la talla al año de edad en animales Angus (McClure et al. 2010), dentro o muy cerca de esta región se encontró anotaciones para 4 genes, entre estos es de interés el gen GNG2 (10:44,71-44,85 Mb), que codifica para una proteína de unión a nucleótidos

de guanina, que hace parte la familia de Proteínas-G, estas proteínas están involucradas como moduladores o transductores en los diferentes sistemas de señalización transmembrana, en la fisiología celular la pareja que conforman la proteína G y su receptor asociado actúan como interruptores biológicos mediante la transducción de señales, generando las cascadas de señalización producidas en el interior de la célula debido a la interacción de ésta con una molécula externa o ligando, es decir, que este sistema de señalización permite que una célula produzca una respuesta frente a un estímulo concreto proveniente del exterior (Wilcox et al. 1995; Benovic 2012), por lo anterior es probable que polimorfismos presentes en este tipo de genes afecten la regulación de una gran variedad de procesos celulares, como aquellos relacionados con la multiplicación y proliferación celular en el tejido muscular y el tejido óseo.

**Análisis regiones de interés BTA11 y BTA13:** para el BTA11 el análisis de asociación permitió identificar cuatro regiones con efecto importante, que corresponden a dos regiones diferentes en cada raza, en el caso de la raza ROMO, la primera región (11:2,10-2,19 Mb) está asociada con P24m (0,16% gVar), no presenta QTLs reportados, pero contiene anotaciones para 4 genes, que incluyen el gen ENSBTAG00000011553 (11:2,12-2,14 Mb) que codifica para una proteína no caracterizada, que en ratones se encontró asociada con incrementos de la masa magra corporal, la longitud corporal y la densidad mineral del hueso (Bult et al. 2015; International Mouse Phenotyping Consortium 2016); la segunda región de interés (11:59,31-59,42 Mb) es común para PD (0,25% gVar) y para P16m (0,17% gVar), y coincide con tres QTLs reportados para peso al destete y peso adulto en ganado de carne (McClure et al. 2010; Imumorin et al. 2011), en esta región se encontró anotaciones para dos genes, cuyas funciones asociadas no parecen tener una relación directa con la regulación del crecimiento en animales (Anexo A). Para la raza BON, la primer región de interés en este cromosoma (11:20,78-20,90 Mb) está asociada con P24m (0,15%) y coincide con un QTL reportado para peso al destete en ganado Angus (McClure et al. 2010), para esta región existen anotaciones de 4 genes, que no tienen funciones reportadas relacionadas con rasgos de crecimiento; la segunda región (11:70,83-71,09 Mb) está asociada con P16m (0,15% gVar) y concuerda con dos QTLs asociados con peso al destete, peso adulto y consumo residual de alimento en ganado de carne (Sherman et al. 2009; McClure et al. 2010). En esta región se encontró anotaciones para un grupo de seis genes (Tabla 3-4), algunos de estos podrían estar asociados de manera indirecta con la regulación del crecimiento en animales, como el gen SPDYA (11:70,91-70,95) que codifica

para la proteína Speedy A, la cual hace parte de una familia de proteínas (Speedy/Ringo) que actúan como reguladores del ciclo celular en células eucariotas, controlando la actividad de las proteínas quinasas dependientes de ciclina (CDKs), CDKs es la molécula que controla el normal desarrollo del ciclo celular y por ende la proliferación celular (Cheng et al. 2005b; Cheng et al. 2005a), también es de interés el gen PPP1CB (11:70,96-70,99), asociado con una proteína fosfatasa serina / treonina (PP1), que actúa como una enzima ubicua eucariota que regula una variedad de procesos celulares a través de la desfosforilación de decenas de sustratos (Ceulemans and Bollen 2004), PP1 se asocia con más de 200 proteínas reguladoras para formar holoenzimas altamente específicas implicadas en diversos procesos celulares, tales como la transcripción, la replicación, empalme pre-mRNA, la síntesis de proteínas, la contracción muscular, el metabolismo de carbohidratos, la regulación del metabolismo del glucógeno, la señalización neuronal, la regulación del período circadiano, la supervivencia celular y la progresión del ciclo celular (Shenolikar 1994; Aggen et al. 2000; Ceulemans and Bollen 2004; Lee et al. 2010a; Schmutz et al. 2011), dado la importancia de este tipo de proteínas, es probable que polimorfismos presentes en este gen afecten algunos procesos celulares relacionados de manera directa o indirecta con el crecimiento de los animales. Otro gen de interés en esta región es el gene FOSL2 (11:71,32-71,35 Mb) que codifica para la proteína FRA2 (Fos-related antigen 2), que hace parte de una familia de proteínas (FOS) que han sido implicadas como reguladores de la proliferación, la diferenciación, y la transformación celular (Bozec et al. 2010; Nakayama et al. 2012), existen reportes en la literatura que indican que FOSL2 está implicado en la regulación fisiológica de la expresión de la Leptina (Wrann et al. 2012), por lo tanto este gen podría estar relacionado con la regulación de la ingesta de alimentos y el gasto energético, afectando de manera directa el peso corporal de los animales (Belgardt and Brüning 2010).

En el BTA13 de la raza ROMO se encontró cuatro regiones de interés asociadas con varias de las características evaluadas, mientras que en la raza BON este cromosoma no presentó regiones significativas. La primera región de interés (13:2,60-2,72 Mb) tiene una asociación moderada con PN (0,14% gVar) y coincide con un QTL (13:1.2-16.1 Mb) relacionado con peso al destete en la raza Angus (McClure et al. 2010), en esta región se encontraron anotaciones para dos genes, uno de estos corresponde al gen PAK7 (13:2,47-2,52 Mb) que codifica para una proteína quinasa Serina/Treonina, este tipo de proteínas participan en diferentes vías de señalización incluyendo la regulación del citoesqueleto, la migración

celular, la proliferación y la supervivencia celular (Cotteret et al. 2003; Cotteret and Chernoff 2006; Wong et al. 2010). La segunda región de interés (13:19,93-20,02 Mb) está asociada con P24m (0,16% gVar) y se ubica muy cerca de la tercera región (13:22,06-22,21 Mb) que está relacionada con el P16m (0,15% gVar), para estas regiones no existe QTLs reportados previamente, pero se encontró anotaciones para tres genes, siendo importante el gen NPR1 (13:19,91-20,06 Mb) que codifica para una glicoproteína transmembrana conocida como Neuropilin-1 (PNR1), que juega un papel importante en diversos procesos biológicos, incluyendo la orientación axonal, angiogénesis, desarrollo vascular, tumorigénesis, y la respuesta inmunológica (Neufeld et al. 2002; Bielenberg et al. 2006), estudios recientes han demostrado que PNR1 actúa como un correceptor para algunos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Soker et al. 1998; Gu et al. 2003), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (Sulpice et al. 2008) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Banerjee et al. 2006), sugiriendo que PNR1 es un proteína de unión a factores de crecimiento que regula el crecimiento y la proliferación celular en diferentes tejidos (Evans et al. 2011). La cuarta región de interés (13:28,09-28,19 Mb) es común para P16m (0,16% gVar) y P24m (0,26% gVar), y coincide con varios QTLs relacionados con ganancia promedio de peso (13:27.0-29.1 Mb) (Rolf et al. 2012), balance de energía (13:27.0-29.1 Mb) (Tetens et al. 2013), peso al destete (13:22.5-33.0 Mb) (McClure et al. 2010), peso al sacrificio (13:28.1-40.8 Mb) (Imumorin et al. 2011) y tasa de conversión alimenticia (13:24.3-53.2 Mb) (Sherman et al. 2009), es de resaltar que los QTL reportados por Rolf et al. (2012) y Tetens et al. (2013) se identificaron mediante un análisis de asociación genómica. Para esta región se encontró anotaciones para varios genes, dentro de los cuales está el gen MCM10 (13:28,13-28,17 Mb), la proteína codificada por este gen es una de las proteínas de mantenimiento de mini-cromosomas altamente conservadas (MCM), que están implicadas en la iniciación de la replicación del genoma eucariota (Lim et al. 2011; Du et al. 2012), la MCM10 es exclusiva de los eucariotas y desempeña un papel clave en las fases de iniciación de la replicación y elongación del ADN cromosómico, afectando de manera directa la proliferación celular (Ricke and Bielinsky 2004; Maiorano et al. 2006; Pacek et al. 2006; Gambus et al. 2006). Otro gen importante en esta región es el gen UCMA (13:28,17-28,19 Mb), que codifica para una proteína que es secretada específicamente en el cartílago, con implicaciones en la osteogénesis, de acuerdo con los resultados de Surmann-Schmitt et al. (2008) y de Tagariello et al. (2008) esta proteína está implicada en el control negativo de la fase temprana de diferenciación de condrocitos, regulando la diferenciación osteogénica; dado que el crecimiento y el

desarrollo de la mayor parte del esqueleto de los vertebrados se da por osificación endocondral, que es un proceso durante el cual los condrocitos experimentan distintas etapas de diferenciación que resulta en una sustitución sucesiva del cartílago por hueso (Tagariello et al. 2008), es posible que polimorfismos presentes en este tipo de genes afecten de manera directa el crecimiento de los animales.

**Análisis regiones de interés BTA14:** como se había descrito previamente, el cromosoma 14 presenta algunas de las regiones de mayor interés, con regiones que están asociadas de manera simultánea con varias de las características evaluadas en las dos razas, como ocurre con la región ubicada entre 27,23 a 27,32 Mb, que presentó una asociación importante con tres de las características evaluadas en la raza BON, PN (0,37% gVar), PD (0,22% gVar) y P16m (0,15% gVar), en el caso de la raza ROMO se identificó una única región de interés (14:24,5-24,6 Mb), que está asociada con tres de los rasgos evaluados, PD (0,57% gVar), P16m (0,52% gVar) y P24m (0,25% gVar). Es importante resaltar que en este cromosoma se encontró diez regiones con efecto significativo para PN en la raza BON, distribuidas entre 19,3 a 27,3 Mb (Tabla 3-4). Las regiones de interés identificadas en este cromosoma coinciden con una gran cantidad de QTLs reportados previamente en la literatura, que en su mayoría están asociados con características de crecimiento y eficiencia alimenticia, como peso al nacimiento (6 QTL) (Kneeland et al. 2004; Maltecca et al. 2009; Saatchi et al. 2014b), peso al destete (3 QTL) (McClure et al. 2010; Saatchi et al. 2014b), peso al año (6 QTL) (Mizoshita et al. 2004; McClure et al. 2010; Littlejohn et al. 2011; Saatchi et al. 2014b), talla corporal (3 QTL) (Morris et al. 2009; McClure et al. 2010), promedio de ganancia diaria pre y pos destete (7 QTL) (Kneeland et al. 2004; Mizoshita et al. 2004; Rolf et al. 2012; Lindholm-Perry et al. 2012b), consumo promedio de alimento diario (1 QTL) (Rolf et al. 2012) y consumo de alimento residual (2 QTL) (Rolf et al. 2012; Lindholm-Perry et al. 2012b) (ver Anexo A).

Estos resultados coinciden con lo reportado en otros estudios de asociación genómica publicados recientemente, que han identificado una región común en este cromosoma, entre 20 y 30 Mb, que alberga SNPs asociados con rasgos de interés productivo como edad a la pubertad en machos y hembras, niveles séricos del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), el peso a diferentes edades, la altura de la cadera y la deposición de grasa en animales de la raza Brahman (*B. indicus*) y animales de razas tropicales compuestas (TC) (Fortes et al. 2012; Hawken et al. 2012). Esta región del BTA14 también se encontró asociada con fenotipos de deposición de grasa, evaluados después del sacrificio, en

estudios que incluyeron ganado *B. taurus*, *B. indicus*, razas TC y animales mestizos (*B. indicus* / *B. taurus*) (Bolormaa et al. 2011b; Bolormaa et al. 2011c; Porto Neto et al. 2012). En otros estudios se ha encontrado esta misma región del BTA14 asociada con la estatura, la talla y el peso a diferentes edades en poblaciones de ganado de leche *B. taurus* (Karim et al. 2011; Littlejohn et al. 2011) y en una población de ganado Negro japonés (Nishimura et al. 2012). También, Snelling et al. (2011) y Lindholm-Perry et al. (2012) reportan SNPs presentes en esta región que se encontraron asociados con otras características importantes como el consumo promedio de alimento, consumo residual y la ganancia promedio de peso. Esta evidencia sugiere que una o más mutaciones localizadas entre 20 a 30 Mb en el BTA14 podrían tener efectos pleiotrópicos sobre diferentes rasgos de interés productivo en el ganado bovino (Fortes et al. 2013).

El cromosoma 14 bovino contiene una gran cantidad de regiones ricas en genes, lo cual es consistente con el número de anotaciones encontradas en las regiones de interés identificadas en este estudio, la mayoría de estas anotaciones corresponden a genes involucrados en procesos de replicación, diferenciación y funcionamiento celular, como el gen ZFAT (14:8,14-8,31 Mb) que codifica para una proteína similar a las proteínas del grupo Zinc Finger, que tienen una alta afinidad de unión al ADN y funcionan como reguladores de la transcripción, implicados en la apoptosis y la supervivencia celular (Klug 2010), igualmente el gen PRKDC (protein kinase) (14:21,03-21,16 Mb) que codifica para una proteína quinasa (Serina / Treonina) que actúa como un sensor molecular para el daño del ADN, y participa en la rotura y reparación de la doble cadena de ADN, siendo importante para el proceso de recombinación genética (Wechsler et al. 2004), lo mismo ocurre con el gen MCM4 (14:21,16-21,19 Mb) que codifica para una proteína que hace parte del complejo MCM2-7 (Minichromosome maintenance protein complex), este complejo cumple un rol esencial en la replicación del ADN eucariota y por ende afecta la proliferación celular (Ishimi 1997; You et al. 1999). Otro gen importante en esta región es el gen SNAI2 (snail family zinc finger 2) (14:21,57-21,58 Mb) que codifica para una proteína que actúa como represor transcripcional, modulando tanto la transcripción dependiente de activador como la basal (Hemavathy et al. 2000), este gen también está implicado en la maduración de osteoblastos (Piva et al. 2011), en esta misma región es de interés el gen SOX17 (SRY-box 17) (14:23,88-23,89 Mb) que codifica para una proteína que hace parte de la familia de factores de transcripción de unión al ADN (SOX) implicados en la regulación del desarrollo embrionario, se ha comprobado que Sox17 participa en diversos procesos de desarrollo

celular y actividades biológicas, como la formación del endodermo (Kanai-Azuma et al. 2002) y el desarrollo vascular (Matsui et al. 2006), también se ha demostrado que juega un papel importante en la hematopoyesis fetal que se lleva a cabo en el saco vitelino e hígado fetal, especialmente en el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas fetales y neonatales (Nakajima-Takagi et al. 2013), sugiriendo que la expresión de este gen puede afectar el peso al nacimiento de los animales de granja, finalmente se incluye el gen LYPLA1 (lisofosfolipasa I) (14:23,65-23,67), que es importante por su función como inhibidor de la hormona ghrelina (Shanado et al. 2004), lo que podría dar lugar a diferencias en el apetito y la ganancia de peso en el ganado bovino, Lindholm-Perry et al. (2012a) encontró un SNP en el gen LYPLA1 asociado significativamente con el consumo promedio de alimento diario en ganado bovino. Todos estos genes se encuentran ubicados en tres regiones genómicas de interés asociadas con la variación genética del PN en la raza BON (Tabla 3-4).

En la región de interés identificada en el BTA14 de la raza ROMO (14:24,5-24,6 Mb) que está asociada con tres de las características evaluadas (Tabla 3-4), se han mapeado algunos genes importante, como el gen XKR4 (14:24,29-24,62 Mb) y el gen TMEM68 (Proteína de transmembrana 68) (14:24,71-24,75 Mb), estudios recientes han identificado variaciones (SNP) en el gen XKR4 asociadas significativamente con espesor de la grasa del anca en razas taurinas e indicus (Bolormaa et al. 2011c; Porto Neto et al. 2012), sugiriendo una posible relación de este gen con el metabolismo y la deposición de grasa en el ganado bovino. También, Lindholm-Perry et al. (2012a) identificaron cinco SNPs cerca de TMEM68 y XKR4 que están fuertemente asociados con el consumo de alimento y la ganancia de peso, de acuerdo con estos reportes y con los resultados de este estudio, los genes XKR4 y TMEM68 pueden ser considerados como posibles genes candidatos posicionales relacionados con características de crecimiento en animales de la raza ROMO.

Existe otra región de interés en el BTA14 (14:43,89-44,03 Mb) asociada con PN en la raza BON (0,2% gVar), que coincide con la ubicación del gen PKIA (protein kinase cAMP-dependent, catalytic inhibitor alpha) (14:43,88-43,98), este gen codifica para un potente inhibidor de la actividad de la proteína quinasa dependiente de AMPc (Gangolli et al. 2000), una gran variedad de hormonas, neurotransmisores y otras moléculas ejercen sus acciones sobre las células diana por medio de una cascada de señalización mediada por el AMP cíclico (AMPc), la generación de cAMP intracelular como respuesta a la estimulación de los receptores acoplados a proteínas G ligadas a la Adenilato Ciclasa, conduce a la activación

de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA), esta cascada de señalización, es uno de los sistemas más versátiles y multifuncionales estudiados hasta la fecha, y es responsable de la modulación de numerosos procesos, tales como la secreción, activación enzimática, y la transcripción (Gangolli et al. 2000), por lo cual, es posible que polimorfismos presentes en la región de codificación de este gen, afecten algunos procesos celulares relacionados con el crecimiento de animales de granja, sin embargo se requieren estudios adicionales para entender mejor este tipo de asociación.

La última región de interés identificada en este cromosoma (14:50,97-51,05 Mb) tiene un efecto moderado para P16m en la raza BON (0,13% gVar), y coincide con la ubicación del gen TRPS1 (trichorhinophalangeal syndrome I) (14:50,84-51,07 Mb) que codifica para un represor transcripcional, que reprime la expresión de genes regulados por secuencias (A/T)GATA(A/G), que se expresan en diferentes etapas del desarrollo de los vertebrados (Malik et al. 2001; Kaiser et al. 2003; Kaiser et al. 2007). Se ha encontrado que este gen regula la proliferación y diferenciación de condrocitos (Suemoto et al. 2007), afectando la formación del cartílago y el proceso de osificación; en humanos, mutaciones presentes en el gen TRPS1 se han asociado con trastornos esqueléticos, que se caracterizan por baja estatura y anomalías craneofaciales (Lüdecke et al. 2001), lo cual sugiere que este es un posible gen candidato que interviene en la regulación del crecimiento en animales.

En el cromosoma 14 del bovino se han mapeado otros genes candidatos importantes que están relacionados con características de interés productivo en ganado de carne y leche, como el gen DGAT1 (*diacylglycerol O-acyltransferase*) (14:1,79-1,81 Mb), el gen FABP4 (*fatty acid-binding protein 4*) (14:46,83-46,84 Mb) y el gen de la Tiroglobulina (TG - *Thyroglobulin*) (14:92,96-95,09 Mb), que son genes candidatos relacionados con el metabolismo de los lípidos, la síntesis de ácidos grasos, el contenido de grasa en leche y la deposición de grasa subcutánea e intramuscular en ganado bovino (Winter et al. 2004; Kühn et al. 2004; Barendse et al. 2004; Michal et al. 2006; Casas et al. 2007; Gan et al. 2008; Hoashi et al. 2008; Barendse et al. 2009; Anton et al. 2011; Hou et al. 2011; Curi et al. 2011). En este estudio no se encontró regiones cromosómicas de interés ubicadas cerca de la región de codificación del gen DGAT1, en cuanto al gen FABP4, la región más cercana con efecto significativo se ubicó a 2,8 Mb. Por su parte, en la región circundante del gen de la Tiroglobulina se encontró dos regiones de interés en la raza BON, ubicadas a 1,05 Mb en dirección 5' y 2,22 Mb en dirección 3' de la zona de codificación de este gen. Existen otros genes importantes mapeados en este cromosoma, como el gen de la hormona

liberadora de corticotropina (*CRH-corticotropin releasing hormone*) (14:32,21-32,61 Mb); de acuerdo con los reportes de la literatura polimorfismos presentes en este gen se han asociado con características de crecimiento, rendimiento de la canal, marmoleado y espesor de la grasa subcutánea en el ganado vacuno (Buchanan et al. 2005; Wibowo et al. 2007), sin embargo, en este estudio no se encontró regiones con efecto importante ubicadas cerca de la zona de codificación de este gen. También, es de interés el gen *PLAG1 (zinc finger)* (14:25,00-25,05 Mb), pues algunos polimorfismos identificados en este gen se han relacionado de manera significativa con características de crecimiento y rasgos de la canal en ganado de carne, sugiriendo un posible efecto pleiotrópico de este gen (Karim et al. 2011; Littlejohn et al. 2011; Hoshiba et al. 2013; Fortes et al. 2013); es de resaltar que en este estudio se encontraron algunas regiones de interés ubicadas cerca de la zona de codificación del gen *PLAG1*, en el caso de la raza ROMO, existe una región importante asociada con tres de las características evaluadas, ubicada a 0,36 Mb en dirección 5', por su parte, en la raza BON existe una región de interés ubicada a 1,49 Mb en dirección 3'. Esto sugiere que el gen *PLAG1* puede ser considerado como un posible gen candidato asociado con rasgos de crecimiento en las razas BON y ROMO.

**Análisis regiones de interés BTA15, BTA16, BTA 19 y BTA20:** en el BTA15 se encontró una única región de interés (15:10,51-10,70 Mb) asociada con PD en la raza ROMO (0,15% gVar), que está ubicada dentro de un QTL asociado con la tasa de conversión alimenticia (Sherman et al. 2009) y con el peso al nacimiento, al destete y al año de edad en la raza Angus (McClure et al. 2010), sin embargo no existen cerca o dentro de esta región anotaciones para genes que puedan estar relacionados con las características evaluadas en este estudio. Lo mismo ocurre en el BTA16, con dos regiones de interés (16:20,05-20,13 Mb y 16:29,60-29,69 Mb) relacionadas con P24m en la raza BON (0,25% gVar) y P24m en la raza ROMO (0,43%), respectivamente. Estas regiones están ubicadas dentro de un QTL que se ha asociado con peso al nacimiento y peso al destete (Alexander et al. 2007; McClure et al. 2010), también con ganancia promedio de peso en ganado de carne (Alexander et al. 2007; Gutiérrez-Gil et al. 2009). En esta región se encontró anotaciones para cinco genes (anexo A), pero hasta el momento ninguno de estos se ha relacionado con procesos fisiológicos que puedan afectar el crecimiento en animales de granja.

En el BTA19 de la raza ROMO se encontró una región de interés (19:14,92-15,12 Mb) asociada con dos de las características evaluadas, P16m (0,20% gVar) y P24m (0,24% gVar), esta región coincide con un QTL (19:7,7-21,6 Mb) relacionado con el peso corporal

al año y el peso adulto en ganado Angus (McClure et al. 2010), también es una región que contienen una cantidad importante de anotaciones de genes (6), entre estos, el gen *Gas2L2* (*growth arrest specific 2 like 2*) (19:14,93-14,95 Mb), que está asociado con el crecimiento de los tendinocitos, este gen pertenece a una familia de 6 genes (*Gas*) que se expresan en los fibroblastos durante la detención del crecimiento (Schneider et al. 1988; Brancolini and Schneider 1994), se ha encontrado que el gen *Gas2* está estrechamente asociado con la detención del crecimiento de este tipo de células (Lee et al. 2003), en condiciones in vitro, la expresión de *Gas2* (ARNm) en los fibroblastos se reduce en presencia de factores de crecimiento y en condiciones que promueven la división celular (Brancolini et al. 1992); de acuerdo con los resultados encontrados en el presente estudio el gen *Gas2L2* se puede considerar como un posible gen candidato posicional relacionado con rasgos de crecimiento en la raza ROMO, sin embargo se requieren estudios adicionales para evaluar su expresión en otros tejidos como el músculo estriado y los osteocitos. Es importante resaltar, que en el BTA19 bovino también ha sido mapeado el gen de la hormona del crecimiento (GH) o somatotropina (19: 48,76-48,77 Mb), este gen juega un papel clave en la regulación del crecimiento y en el desarrollo del ganado bovino (Tuggle and Trenkle 1996; Breier 1999; Grochowska et al. 2001; Biswas et al. 2003; Arango et al. 2014), sin embargo, en el presente estudio no se encontró regiones de interés ubicadas dentro o cerca de la región de codificación de este gen.

En el BTA20 de la raza BON se identificó dos regiones de interés, la primer región (20:34,31-34,39 Mb) está asociada con P16m (0,19% gVar), y coincide con un QTL (20:34.3-34.5 Mb) reportado por Sherman et al. (2008) asociado con la tasa de conversión alimenticia, consumo de materia seca y consumo de alimento residual evaluados en diferentes razas de ganado de carne, en esta misma región McClure et al. (2010) reporta un QTL (20:29.9-35.3 Mb) asociado con peso corporal adulto en animales Angus. Para esta región existen pocas anotaciones de genes, que en su mayoría corresponde a proteínas no caracterizadas, sin función conocida, sin embargo a 2,25 Mb en sentido 5' de ese punto se encuentra ubicado el gen del receptor de la hormona del crecimiento (GHR) (20:31,89-32,07 Mb), polimorfismos reportados en este gen se han asociado con variaciones en la producción de leche y carne en el ganado bovino (Maj et al. 2008), si bien, existe una distancia importante entre este gen y la región de interés, teniendo en cuenta la tasa de desequilibrio de ligamiento (LD) que existe en la raza BON, es posible que SNP presentes en esta región segreguen de manera conjunta con polimorfismos presentes en el gen GHR.

La segunda región de interés (20:44,45-44,55 Mb) está asociada con P24m (0,24% gVar), para esta región no existen QTLs reportados en la literatura, tampoco se encontraron anotaciones de genes de interés.

**Análisis regiones de interés BTA23 y BTA25:** al igual que el BTA14, el BTA23 presenta algunas de las regiones de mayor interés, que son comunes para las dos razas. Con una región importante ubicada en la parte inicial del cromosoma (23:0,40-0,77 Mb), que en la raza BON se encontró asociada con PD (0,22% gVar) y P16m (0,42% gVar), y de manera moderada con P24m (0,10 % gVar), esta misma región en la raza ROMO está relacionada con PD (0,15% gVar), P16m (0,24% gVar) y P24m (0,21% gVar), lo que sugiere que dentro o cerca de esta región existe uno o varios genes conservados que afectan la expresión de características asociadas al crecimiento en estas dos razas. Otros estudios también han identificado en esta región del BTA23 un QTL que se ha asociado con características de conformación en ganado de leche (Ashwell et al. 2005) y con peso al sacrificio (Elo et al. 1999). En esta región se encontró una anotación relacionada con el gen KHDRBS2 (23:0,18-0,86 Mb), este gen también se ha denominado como SLM1, y codifica para una proteína que es altamente expresada en el músculo esquelético y cardíaco (Brown et al. 1999), se ha demostrado que SLM1 regula eventos mediados por integrina, incluyendo la propagación y la migración de mioblastos, y la señalización hipertrófica en el miocardio (Robinson et al. 2003), es posible que este gen también se exprese en el músculo estriado afectando el crecimiento en animales de granja, pero no existen reportes en la literatura que corroboren esta asociación.

La segunda región de interés en este cromosoma (23:14,17-14,25 Mb) está asociada con P16m (0,15% gVar) y con P24m (0,17% gVar) en la raza ROMO, y coincide con un QTL reportado por McClure et al. (2010), relacionado con el peso al destete, el peso al año y el peso adulto en ganado Angus, otros estudios también han relacionado esta región con promedio de ganancia diaria (Kneeland et al. 2004) y con el peso al sacrificio (Elo et al. 1999), la mayoría de las anotaciones presentes en esta región corresponden a genes que codifican para proteínas no caracterizadas, sin función reportada, por lo que es necesario el desarrollo de nuevos estudios que permitan identificar posibles genes candidatos asociados con características de crecimiento en esta región.

En el BTA25 de la raza BON se encontró tres regiones de interés, con una primera región (25: 3,62-3,70 Mb) relacionada con P24m (0,16% gVar), que coincide con un QTL (23:3.7-

13.8 Mb) que ha sido reportado como asociado con peso al nacimiento (McClure et al. 2010), peso al año (Kim et al. 2003) y peso al sacrificio (Imumorin et al. 2011), cerca de esta región se encontró anotaciones para cinco genes, que incluyen el gen MGRN1 (25:37,54-37,92 Mb), en ratones este gen se ha asociado con el mecanismo de regulación de la insulina, afectando el metabolismo de la glucosa (Phan et al. 2006), sugiriendo que es un posible gen candidato relacionado con la regulación del metabolismo energético en animales. La segunda región de interés (25:27,84-27,95 Mb) tiene un efecto moderado para P16m (0,13% gVar), en un estudio de asociación genómica realizado por Rolf et al. (2012) esta misma región se encontró asociada con ganancia promedio diaria y consumo residual de alimento en ganado Angus, también McClure et al. (2010) reporta un QTL asociado con peso al destete y peso adulto en esta misma raza. esta es una región rica en genes que cumplen diferentes funciones a nivel celular, como el gen PHKG1 (25:28,00-28,01 Mb) que en humanos está asociado con el síndrome de glucogénesis muscular (Wehner et al. 1994), indicando que este gen puede participar en la regulación del metabolismo del glucógeno y la glucosa, igualmente el gen SLC5A2 (25:27,77-27,78 Mb), que también se ha relacionado con el metabolismo de la glucosa (Zhao et al. 2005). La última región de interés identificada en este cromosoma (25:40,40-40,56 Mb) está asociada con PD (0,17% gVar), para esta región no se encontraron QTL reportados en otras razas y las anotaciones de genes son escasas, el único gen reportado es SDK1 que hasta el momento no parece tener una relación directa con la regulación del crecimiento en animales.

**Análisis regiones de interés BTA26 y BTA27:** en el BTA26 se encontró tres regiones de interés, una de estas regiones (26:8,22-8,36 Mb) está asociada con PN en la raza ROMO (0,15% gVar), y coincide con un QTL relacionado con rasgos de crecimiento en ganado Africano y ganado Angus (Hanotte et al. 2003; McClure et al. 2010), en esta región se encontró anotaciones para dos genes, el gen PRKG1 (proteína quinasa, dependiente de cGMP, tipo I) (26:6,90-8,34 Mb) y el gen A1CF (factor de complementación APOBEC1) (26:8,48-8,59 Mb), estos genes están relacionados con el sistema de señalización dependiente de cGMP (Sellak et al. 2011), PRKG-I controla muchas funciones celulares, incluyendo el crecimiento (Garg and Hassid 1989; Chen et al. 2004), la diferenciación celular (Lincoln et al. 2001), la apoptosis (Loweth et al. 1997; Shimojo et al. 1999) y la regulación de genes (Lincoln et al. 2001; Pilz and Broderick 2005), dado que este gen interviene en varios procesos celulares es posible que polimorfismo presentes en su zona de codificación puedan afectar mecanismos fisiológicos relacionados con rasgos de crecimiento en ganado

bovino. La segunda región de interés (26:30,50-30,61 Mb) está asociada con PN en la raza BON (0,14% gVar), y está ubicada dentro de un QTL (26:25.4-39.2 Mbp) relacionado con consumo residual de alimento (Sherman et al. 2009) y con peso al destete y talla adulta en ganado Angus (McClure et al. 2010), en esta región se encontró anotaciones para tres genes, cuyas funciones no parecen estar relacionadas de manera directa con rasgos de crecimiento. La última región identificada en este cromosoma (26:39,90-39,99 Mb) está asociada con P24m en la raza BON (0,14% gVar), para esta posición no existen QTLs reportados previamente, sin embargo existen anotaciones para dos genes importantes, el gen GRK5 (receptor quinasa 5 acoplado a proteína G) (26:39,70-39,93 Mb) y el gen RGS10 (regulador de la proteína G de señalización 10) (26:39,97-40,02 Mb), que están relacionados con la regulación del sistema de receptores acoplados a proteínas G ligadas a la Adenilato Ciclasa, que conduce a la activación de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA) (Hunt et al. 1996; Chen et al. 2010; Barker and Benovic 2011), como ya se había precisado este sistema de señalización es responsable de la modulación de numerosos procesos, tales como la secreción, activación enzimática, y la transcripción (Gangolli et al. 2000), sugiriendo la posible relación de estos genes con la regulación de procesos celulares y fisiológicos asociados con el crecimiento y el desarrollo en animales bovinos.

Finalmente se encontró una región importante en el cromosoma 27 (27:21,46-21,58 Mb) asociada con P24m en la raza BON (0,16% gVar), si bien esta región no coincide con QTLs reportados en la literatura, si existe una anotación para un gen de interés, el gen SGCZ (*sarcoglycan, zeta*) (27:20,91-22,04 Mb) que codifica para una proteína que hace parte del complejo sarcoglicano (SGC), el SGC desempeña un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad de la membrana del músculo estriado (Campbell 1995; Liu and Engvall 1999; Blake et al. 2002), también es importante para mantener un adecuado equilibrio de iones de calcio y regula el desarrollo y mantenimiento de las células musculares a través de funciones de señalización (Wheeler and McNally 2003; Anastasi et al. 2007), sugiriendo que este puede ser un gen candidato posicional y funcional relacionado con características de crecimiento en la raza BON, sin embargo, se requieren estudios adicionales para corroborar esta posible asociación.

## 4.2 Conclusiones

Los niveles de LD y la distribución de frecuencias alélicas encontrados en este estudio sugieren que al utilizar el Chip BovineSNP50K\_v2 como plataforma de genotipado, es posible tener una adecuada cobertura a lo largo del genoma de este tipo de razas Criollas, lo cual permite capturar el efecto de la mayoría de QTL relacionados con rasgos de interés productivo y asegurar una adecuada capacidad de predicción en los análisis genómicos (GWAS, GS).

En este estudio de asociación se identificaron 54 regiones genómicas asociadas con características de crecimiento en las razas evaluadas (QTL), con 28 regiones de interés en la raza BON, y 26 en la raza ROMO, donde se localizaron 53 posibles genes candidatos posicionales. En particular, se detectaron SNP's con efecto importante, ubicados cerca de genes que tienen un rol conocido en la regulación del crecimiento, como LEPR (receptor de la leptina), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), LEP (leptina), Myf5 (factor miogénico 5), TG (Tiroglobulina) y PLAG1 (zinc finger).

Existen dos regiones genómicas con efecto común para las dos razas, asociadas con varias de las características evaluadas. Una región en el BTA14 que es consistente con los reportes de varios GWAS realizados en otras razas de ganado, además contiene algunos genes candidatos de interés como XKR4, TMEM68 y PLAG1. La segunda región ubicada en el BTA23 no ha sido reportada en otras razas, sin embargo, los resultados de este estudio sugieren que el gen KHDRBS2 ubicado en este punto, está relacionado con la regulación del crecimiento en este tipo de razas criollas.

Las demás regiones genómicas de interés identificadas en este estudio son particulares de cada raza, con algunas que tienen efecto común para dos o más características, especialmente en la raza ROMO. La mayoría de estas regiones están relacionadas con genes que intervienen en una serie de mecanismos biológicos con un papel conocido en otros organismos, tales como seres humanos y ratones, es posible que muchos de estos genes cumplan una función similar para rasgos análogos en *Bos Taurus*. Estos resultados apoyan hallazgos previos que sugieren que varios procesos biológicos básicos involucrados en el crecimiento y el metabolismo están muy conservados entre diferentes especies de animales.

### 4.3 Recomendaciones

Los resultados de este estudio pueden ayudar a perfeccionar las regiones asociadas a QTL de mayor tamaño, que han sido reportados previamente para características de crecimiento o rasgos relacionados, y pueden ser la base para el desarrollo de nuevas investigaciones que permitan identificar mutaciones causales (QTN), esto mediante el uso de tecnologías de secuenciación de nueva generación, que permiten realizar resecuenciación específica de regiones de interés para identificar nuevas mutaciones causales potencialmente asociadas con la expresión de rasgos de crecimiento.

Se requiere realizar nuevas investigaciones para corroborar la posible asociación de los genes candidatos que fueron identificados en este estudio, y comprender el efecto acumulado que tienen sus interacciones dentro los procesos biológicos (rutas metabólicas) relacionados con la expresión de rasgos de crecimiento en este tipo de ganado.

Este estudio indica que además de las regiones genómicas que contiene SNPs con un efecto altamente significativo, existe una gran cantidad de regiones con efectos pequeños a moderados que son reales, y que en conjunto pueden ajustarse a un modelo poligénico y explicar una parte importante de la variación de los rasgos de crecimiento bajo un contexto de selección genómica.

Estos resultados sugieren que en estas poblaciones existen las condiciones idóneas para poder implementar una estrategia de selección genómica que permita mejorar la identificación y selección de reproductores de buen merito genético para rasgos de crecimiento y conformación, con la posibilidad de mejorar la eficiencia productiva y la competitividad del ganado Criollo, para lograr una mayor participación en los sistemas productivos locales.

### 4.4 Bibliografía

Adams J (2008) Sequencing the human genome: The contributions of Francis Collins and Craig Venter. *Nat Educ* 1:133.

Aggen JB, Nairn AC and Chamberlin R (2000) Regulation of protein phosphatase-1. *Chem Biol* 7:R13–23.

Alberta Agriculture and Rural Development. (2006) Residual Feed Intake (Net Feed Efficiency) in Beef Cattle.

- Alexander LJ, Geary TW, Snelling WM and Macneil MD (2007) Quantitative trait loci with additive effects on growth and carcass traits in a Wagyu-Limousin F2 population. *Anim Genet* 38:413–6. doi: 10.1111/j.1365-2052.2007.01616.x
- Almeida SEM, Almeida EA, Moraes JCF and Weimer TA (2003) Molecular markers in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle. *J Anim Breed Genet* 120:106–113. doi: 10.1046/j.1439-0388.2003.00377.x
- Anastasi G, Cutroneo G, Sidoti A, Rinaldi C, Bruschetta D, Rizzo G, D'Angelo R, Tarone G, Amato A and Favalaro A (2007) Sarcoglycan subcomplex expression in normal human smooth muscle. *J Histochem Cytochem* 55:831–43. doi: 10.1369/jhc.6A7145.2007
- Andrade PC, Grossi DA, Paz CCP, Alencar MM, Regitano LCA and Munari DP (2008) Association of an insulin-like growth factor 1 gene microsatellite with phenotypic variation and estimated breeding values of growth traits in Canchim cattle. *Anim Genet* 39:480–5. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01755.x
- Anton I, Kovacs K, Hollo G, Farkas V, Brockmann GA, Szabo F and Zsolnai A (2012) Effect of DGAT1, leptin and TG gene polymorphisms on some milk production traits in different dairy cattle breeds in Hungary. *Arch fur Tierzucht* 55:307–314.
- Anton I, Kovács K, Holló G, Farkas V, Lehel L, Hajda Z and Zsolnai A (2011) Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Livest Sci* 135:300–303. doi: 10.1016/j.livsci.2010.07.012
- Arango J, Echeverri JJ and López A (2014) Association between a polymorphism in intron 3 of the bovine growth hormone gene and growth traits in Holstein heifers in Antioquia. *Genet Mol Res* 13:6191–9. doi: 10.4238/2014.August.15.1
- Asami O, Ihara I, Shimidzu N, Shimizu S, Tomita Y, Ichihara A and Nakamura T (1991) Purification and characterization of hepatocyte growth factor from injured liver of carbon tetrachloride-treated rats. *J Biochem* 109:8–13.
- Ashwell MS, Heyen DW, Weller JL, Ron M, Sonstegard TS, Van Tassell CP and Lewin HA (2005) Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. *J Dairy Sci* 88:4111–9. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)73095-2
- Baeza MC, Corva PM, Soria LA, Rincon G, Medrano JF, Pavan E, Villarreal EL, Schor A, Melucci L, Mezzadra C et al. (2011) Genetic markers of body composition and carcass quality in grazing Brangus steers. *Genet Mol Res* 10:3146–3156. doi: 10.4238/2011.December.19.3
- Baker J, Liu JP, Robertson EJ and Efstratiadis A (1993) Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 75:73–82.
- Banerjee S, Sengupta K, Dhar K, Mehta S, D'Amore PA, Dhar G and Banerjee SK (2006) Breast cancer cells secreted platelet-derived growth factor-induced motility of vascular smooth muscle cells is mediated through neuropilin-1. *Mol Carcinog* 45:871–80. doi: 10.1002/mc.20248
- Barendse W, Bunch R, Thomas M, Armitage S, Baud S and Donaldson N (2004) The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Aust J Exp Agric* 44:669. doi: 10.1071/EA02156
- Barendse W, Bunch RJ, Thomas MB and Harrison BE (2009) A splice site single nucleotide polymorphism of the fatty acid binding protein 4 gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissimus muscle in Australian cattle. *Anim Genet* 40:770–3. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01913.x
- Barker BL and Benovic JL (2011) G protein-coupled receptor kinase 5 phosphorylation of hip regulates internalization of the chemokine receptor CXCR4. *Biochemistry* 50:6933–41. doi: 10.1021/bi2005202
- Barwick SA and Henzell AL (2005) Development successes and issues for the future in deriving and applying selection indexes for beef breeding. *Aust J Exp Agric* 45:923. doi: 10.1071/EA05068

- Baumrucker CR and Erondu NE (2000) Insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine mammary gland and milk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 5:53–64.
- Beck KD, Powell-Braxton L, Widmer HR, Valverde J and Hefti F (1995) Igf1 gene disruption results in reduced brain size, CNS hypomyelination, and loss of hippocampal granule and striatal parvalbumin-containing neurons. *Neuron* 14:717–30.
- Belgardt BF and Brüning JC (2010) CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. *Ann N Y Acad Sci* 1212:97–113. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05799.x
- Belgareh-Touzé N, Avaro S, Rouillé Y, Hoflack B and Haguenaer-Tsapis R (2002) Yeast Vps55p, a functional homolog of human obesity receptor gene-related protein, is involved in late endosome to vacuole trafficking. *Mol Biol Cell* 13:1694–708. doi: 10.1091/mbc.01-12-0597
- Benovic JL (2012) G-protein-coupled receptors signal victory. *Cell* 151:1148–50. doi: 10.1016/j.cell.2012.11.015
- Bielenberg DR, Pettaway CA, Takashima S and Klagsbrun M (2006) Neuropilins in neoplasms: expression, regulation, and function. *Exp Cell Res* 312:584–93. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.11.024
- Biswas TK, Bhattacharya TK, Narayan AD, Badola S, Kumar P and Sharma A (2003) Growth Hormone Gene Polymorphism and Its Effect on Birth Weight in Cattle and Buffalo. *Asian-Australasian J Anim Sci* 16:494–497. doi: 10.5713/ajas.2003.494
- Bladt F, Riethmacher D, Isenmann S, Aguzzi A and Birchmeier C (1995) Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 376:768–71. doi: 10.1038/376768a0
- Blake DJ, Weir A, Newey SE and Davies KE (2002) Function and Genetics of Dystrophin and Dystrophin-Related Proteins in Muscle. *Physiol Rev* 82:291–329.
- Bolormaa S, Hayes BJ, Savin K, Hawken R, Barendse W, Arthur PF, Herd RM and Goddard ME (2011a) Genome-wide association studies for feedlot and growth traits in cattle. *J Anim Sci* 89:1684–1697. doi: 10.2527/jas.2010-3079
- Bolormaa S, Neto LRP, Zhang YD, Bunch RJ, Harrison BE, Goddard ME and Barendse W (2011b) A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle. *J Anim Sci* 89:2297–309. doi: 10.2527/jas.2010-3138
- Bolormaa S, Pryce JE, Kemper KE, Hayes BJ, Zhang Y, Tier B, Barendse W, Reverter A and Goddard ME (2013) Detection of quantitative trait loci in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using genome-wide association studies. *Genet Sel Evol* 45:43. doi: 10.1186/1297-9686-45-43
- Börner S, Derno M, Hacke S, Kautzsch U, Schäff C, Thanthan S, Kuwayama H, Hammon HM, Röntgen M, Weikard R et al. (2013) Plasma ghrelin is positively associated with body fat, liver fat and milk fat content but not with feed intake of dairy cows after parturition. *J Endocrinol* 216:217–29. doi: 10.1530/JOE-12-0384
- Bozec A, Bakiri L, Jimenez M, Schinke T, Amling M and Wagner EF (2010) Fra-2/AP-1 controls bone formation by regulating osteoblast differentiation and collagen production. *J Cell Biol* 190:1093–106. doi: 10.1083/jcb.201002111
- Brancolini C, Bottega S and Schneider C (1992) Gas2, a growth arrest-specific protein, is a component of the microfilament network system. *J Cell Biol* 117:1251–61.
- Brancolini C and Schneider C (1994) Phosphorylation of the growth arrest-specific protein Gas2 is coupled to actin rearrangements during G<sub>0</sub>→G<sub>1</sub> transition in NIH 3T3 cells. *J Cell Biol* 124:743–56.
- Braun T, Bober E, Winter B, Rosenthal N and Arnold HH (1990) Myf-6, a new member of the human gene family of myogenic determination factors: evidence for a gene cluster on chromosome 12. *EMBO J* 9:821–31.

Braun T, Buschhausen-Denker G, Bober E, Tannich E and Arnold HH (1989) A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T1/2 fibroblasts. *EMBO J* 8:701–9.

Breier BH (1999) Regulation of protein and energy metabolism by the somatotropic axis. *Domest Anim Endocrinol* 17:209–18.

Brown S, McGrath MJ, Ooms LM, Gurung R, Maimone MM and Mitchell CA (1999) Characterization of Two Isoforms of the Skeletal Muscle LIM Protein 1, SLIM1: localization of SLIM1 at focal adhesions and the isoform slimmer in the nucleus of myoblasts and cytoplasm of myotubes suggests distinct roles in the cytoskeleton and in nuclear. *J Biol Chem* 274:27083–27091. doi: 10.1074/jbc.274.38.27083

Buchanan FC, Fitzsimmons CJ, Van Kessel AG, Thue TD, Winkelman-Sim DC and Schmutz SM (2002) Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol* 34:105–16. doi: 10.1051/gse:2001006

Buchanan FC, Thue TD, Yu P and Winkelman-Sim DC (2005) Single nucleotide polymorphisms in the corticotrophin-releasing hormone and pro-opiomelanocortin genes are associated with growth and carcass yield in beef cattle. *Anim Genet* 36:127–31. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01255.x

Buchanan FC, Van Kessel AG, Waldner C, Christensen DA, Laarveld B and Schmutz SM (2003) Hot topic: an association between a leptin single nucleotide polymorphism and milk and protein yield. *J Dairy Sci* 86:3164–6. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73918-6

Bult CJ, Eppig JT, Blake JA, Kadin JA and Richardson JE (2015) Mouse genome database 2016. *Nucleic Acids Res* 44:D840–7. doi: 10.1093/nar/gkv1211

Cai H, Lan X, Li A, Zhou Y, Sun J, Lei C, Zhang C and Chen H (2013) SNPs of bovine HGF gene and their association with growth traits in Nanyang cattle. *Res Vet Sci* 95:483–8. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.04.007

Campbell KP (1995) Three muscular dystrophies: loss of cytoskeleton-extracellular matrix linkage. *Cell* 80:675–9.

Cao P, Maximov A and Südhof TC (2011) Activity-dependent IGF-1 exocytosis is controlled by the Ca(2+)-sensor synaptotagmin-10. *Cell* 145:300–11. doi: 10.1016/j.cell.2011.03.034

Casas E, Keele JW, Shackelford SD, Koohmaraie M, Sonstegard TS, Smith TP, Kappes SM and Stone RT (1998) Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. *J Anim Sci* 76:468–473. doi: /1998.762468x

Casas E, Stone RT, Keele JW, Shackelford SD, Kappes SM and Koohmaraie M (2001) A comprehensive search for quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternative forms of the myostatin gene. *J Anim Sci* 79:854–60.

Casas E, White SN, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M, Bennett GL and Smith TPL (2007) Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *J Anim Sci* 85:2807–14. doi: 10.2527/jas.2007-0179

Ceulemans H and Bollen M (2004) Functional diversity of protein phosphatase-1, a cellular economizer and reset button. *Physiol Rev* 84:1–39. doi: 10.1152/physrev.00013.2003

Chagas LM, Bass JJ, Blache D, Burke CR, Kay JK, Lindsay DR, Lucy MC, Martin GB, Meier S, Rhodes FM et al. (2007) Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 90:4022–32. doi: 10.3168/jds.2006-852

Chan EKF, Hawken R and Reverter A (2009) The combined effect of SNP-marker and phenotype attributes in genome-wide association studies. *Anim Genet* 40:149–56. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01816.x

- Chang DF, Belaguli NS, Chang J and Schwartz RJ (2007) LIM-only protein, CRP2, switched on smooth muscle gene activity in adult cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:157–62. doi: 10.1073/pnas.0605635103
- Chase Jr. CC, Hammond AC, Olson TA, Murphy CN, Tewolde A and Griffin JL (1997) Introduction of Romosinuano in the U.S.A. *Arch Latinoam Prod Anim* 5:57–71.
- Chebel RC and Santos JEP (2011) Association between leptin single nucleotide polymorphism and reproductive performance of lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 127:126–34. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.06.011
- Chen L, Daum G, Chitale K, Coats SA, Bowen-Pope DF, Eigenthaler M, Thumati NR, Walter U and Clowes AW (2004) Vasodilator-stimulated phosphoprotein regulates proliferation and growth inhibition by nitric oxide in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:1403–8. doi: 10.1161/01.ATV.0000134705.39654.53
- Chen X, Zhu H, Yuan M, Fu J, Zhou Y and Ma L (2010) G-protein-coupled receptor kinase 5 phosphorylates p53 and inhibits DNA damage-induced apoptosis. *J Biol Chem* 285:12823–30. doi: 10.1074/jbc.M109.094243
- Cheng A, Gerry S, Kaldis P and Solomon MJ (2005a) Biochemical characterization of Cdk2-Speedy/Ringo A2. *BMC Biochem* 6:19. doi: 10.1186/1471-2091-6-19
- Cheng A, Xiong W, Ferrell JE and Solomon MJ (2005b) Identification and comparative analysis of multiple mammalian Speedy/Ringo proteins. *Cell Cycle* 4:155–65.
- Cho J-H, Itoh T, Sendai Y and Hoshi H (2008) Fibroblast growth factor 7 stimulates in vitro growth of oocytes originating from bovine early antral follicles. *Mol Reprod Dev* 75:1736–43. doi: 10.1002/mrd.20912
- Choudhary V, Kumar P, Bhattacharya TK, Bhushan B and Sharma A (2005) DNA polymorphism of leptin gene in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Genet Mol Biol* 28:740–742. doi: 10.1590/S1415-47572005000500014
- Clempson AM, Pollott GE, Brickell JS and Wathes DC (2012) Associations between bovine IGFBP2 polymorphisms with fertility, milk production, and metabolic status in UK dairy cows. *Anim Biotechnol* 23:101–13. doi: 10.1080/10495398.2011.650775
- Compton AG, Albrecht DE, Seto JT, Cooper ST, Ilkovski B, Jones KJ, Challis D, Mowat D, Ranscht B, Bahlo M et al. (2008) Mutations in contactin-1, a neural adhesion and neuromuscular junction protein, cause a familial form of lethal congenital myopathy. *Am J Hum Genet* 83:714–24. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.10.022
- Cotteret S and Chernoff J (2006) Nucleocytoplasmic shuttling of Pak5 regulates its antiapoptotic properties. *Mol Cell Biol* 26:3215–30. doi: 10.1128/MCB.26.8.3215-3230.2006
- Cotteret S, Jaffer ZM, Beeser A and Chernoff J (2003) p21-Activated kinase 5 (Pak5) localizes to mitochondria and inhibits apoptosis by phosphorylating BAD. *Mol Cell Biol* 23:5526–39.
- Cunningham MJ, Clifton DK and Steiner RA (1999) Leptin's Actions on the Reproductive Axis: Perspectives and Mechanisms. *Biol Reprod* 60:216–222. doi: 10.1095/biolreprod60.2.216
- Curi RA, Chardulo LAL, Arrigoni MDB, Silveira AC and de Oliveira HN (2011) Associations between LEP, DGAT1 and FABP4 gene polymorphisms and carcass and meat traits in Nelore and crossbred beef cattle. *Livest Sci* 135:244–250. doi: 10.1016/j.livsci.2010.07.013
- de Gortari P, González-Alzati ME, Jaimes-Hoy L, Estrada A, Mancera K, García-Luna C and Amaya MI (2012) La hormona liberadora de tirotrópina (TRH) del núcleo paraventricular hipotalámico y sistema límbico como reguladora de la homeostasis energética y de la conducta alimentaria en animales con ayuno, restricción alimentaria y anorexia. *Salud Ment* 35:385–393.
- de Luis Roman D, de la Fuente RA, Sagrado MG, Izaola O and Vicente RC (2006) Leptin receptor Lys656Asn polymorphism is associated with decreased leptin response and weight loss secondary

to a lifestyle modification in obese patients. *Arch Med Res* 37:854–9. doi: 10.1016/j.arcmed.2006.03.009

Delavaud C, Ferlay A, Faulconnier Y, Bocquier F, Kann G and Chilliard Y (2002) Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J Anim Sci* 80:1317–1328. doi: /2002.8051317x

Djiotsa J, Verbruggen V, Giacomotto J, Ishibashi M, Manning E, Rinkwitz S, Manfroid I, Voz ML and Peers B (2012) Pax4 is not essential for beta-cell differentiation in zebrafish embryos but modulates alpha-cell generation by repressing arx gene expression. *BMC Dev Biol* 12:37. doi: 10.1186/1471-213X-12-37

Dodds KG, McEwan JC and Davis GH (2007) Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small Rumin Res* 70:32–41. doi: 10.1016/j.smallrumres.2007.01.010

Doran AG, Berry DP and Creevey CJ (2014) Whole genome association study identifies regions of the bovine genome and biological pathways involved in carcass trait performance in Holstein-Friesian cattle. *BMC Genomics* 15:837. doi: 10.1186/1471-2164-15-837

Drögemüller C and Kempers A (2000) A TaqI PCR-RFLP at the bovine myogenic factor ( MYF5 ) gene. *Anim Genet* 31:146–146. doi: 10.1046/j.1365-2052.2000.00598.x

Du W, Stauffer ME and Eichman BF (2012) Structural biology of replication initiation factor Mcm10. *Subcell Biochem* 62:197–216. doi: 10.1007/978-94-007-4572-8\_11

Dupont J, Dunn SE, Barrett JC and LeRoith D (2003) Microarray analysis and identification of novel molecules involved in insulin-like growth factor-1 receptor signaling and gene expression. *Recent Prog Horm Res* 58:325–42.

Eggen A (2012) The development and application of genomic selection as a new breeding paradigm. *Anim Front* 2:10–15. doi: 10.2527/af.2011-0027

Elo KT, Vilkki J, de Koning DJ, Velmala RJ and Mäki-Tanila A V (1999) A quantitative trait locus for live weight maps to bovine chromosome 23. *Mamm Genome* 10:831–5.

Elzo MA, Manrique C, Ossa G and Acosta O (1998) Additive and nonadditive genetic variability for growth traits in the Turipaná Romosinuano-Zebu multibreed herd. *J Anim Sci* 76:1539–49.

Evans IM, Yamaji M, Britton G, Pellet-Many C, Lockie C, Zachary IC and Frankel P (2011) Neuropilin-1 signaling through p130Cas tyrosine phosphorylation is essential for growth factor-dependent migration of glioma and endothelial cells. *Mol Cell Biol* 31:1174–85. doi: 10.1128/MCB.00903-10

F.W. Te Pas and A. Soumilion M (2001) Improvement of Livestock Breeding Strategies Using Physiologic and Functional Genomic Information of the Muscle Regulatory Factors Gene Family for Skeletal Muscle Development. *Curr Genomics* 2::285–304.

Fan B, Du Z-Q, Gorbach DM and Rothschild MF (2010) Development and Application of High-density SNP Arrays in Genomic Studies of Domestic Animals. *Asian-Australasian J Anim Sci* 23:833–847. doi: 10.5713/ajas.2010.r.03

Fortes MRS, Curi RA, Chardulo LAL, Silveira AC, Assumpção MEOD, Visintin JA and de Oliveira HN (2009) Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. *Genet Mol Biol* 32:75–82. doi: 10.1590/S1415-47572009000100011

Fortes MRS, Kemper K, Sasazaki S, Reverter A, Pryce JE, Barendse W, Bunch R, McCulloch R, Harrison B, Bolormaa S et al. (2013) Evidence for pleiotropism and recent selection in the PLAG1 region in Australian Beef cattle. *Anim Genet* 44:636–47. doi: 10.1111/age.12075

Fortes MRS, Lehnert SA, Bolormaa S, Reich C, Fordyce G, Corbet NJ, Whan V, Hawken RJ and Reverter A (2012) Finding genes for economically important traits: Brahman cattle puberty. *Anim Prod Sci* 52:143. doi: 10.1071/AN11165

- Gambus A, Jones RC, Sanchez-Diaz A, Kanemaki M, van Deursen F, Edmondson RD and Labib K (2006) GINS maintains association of Cdc45 with MCM in replisome progression complexes at eukaryotic DNA replication forks. *Nat Cell Biol* 8:358–66. doi: 10.1038/ncb1382
- Gan Q-F, Zhang L-P, Li J-Y, Hou G-Y, Li H-D, Gao X, Ren H-Y, Chen J-B and Xu S-Z (2008) Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *J Appl Genet* 49:251–5. doi: 10.1007/BF03195621
- Gangolli EA, Belyamani M, Muchinsky S, Narula A, Burton KA, McKnight GS, Uhler MD and Idzerda RL (2000) Deficient gene expression in protein kinase inhibitor alpha Null mutant mice. *Mol Cell Biol* 20:3442–8.
- Garcia MR, Amstalden M, Williams SW, Stanko RL, Morrison CD, Keisler DH, Nizielski SE and Williams GL (2002) Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *J Anim Sci* 80:2158–2167. doi: /2002.8082158x
- Garg UC and Hassid A (1989) Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 83:1774–7. doi: 10.1172/JCI114081
- Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH and Skoda RC (1996) Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:6231–5.
- Goddard ME and Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nat Rev Genet* 10:381–91. doi: 10.1038/nrg2575
- Grochowska, Lundén, Zwierzchowski, Snochowski and Oprzadek J (2001) Association between gene polymorphism of growth hormone and carcass traits in dairy bulls. *Anim. Sci.* 72:
- Groom A, Potter C, Swan DC, Fatemifar G, Evans DM, Ring SM, Turcot V, Pearce MS, Embleton ND, Smith GD et al. (2012) Postnatal growth and DNA methylation are associated with differential gene expression of the TACSTD2 gene and childhood fat mass. *Diabetes* 61:391–400. doi: 10.2337/db11-1039
- Gu C, Rodriguez ER, Reimert D V, Shu T, Fritsch B, Richards LJ, Kolodkin AL and Ginty DD (2003) Neuropilin-1 conveys semaphorin and VEGF signaling during neural and cardiovascular development. *Dev Cell* 5:45–57.
- Guo Y, Chen H, Lan X, Zhang B, Pan C, Zhang L, Zhang C and Zhao M (2008) Novel SNPs of the bovine LEPR gene and their association with growth traits. *Biochem Genet* 46:828–34. doi: 10.1007/s10528-008-9197-z
- Gutiérrez-Gil B, Williams JL, Homer D, Burton D, Haley CS and Wiener P (2009) Search for quantitative trait loci affecting growth and carcass traits in a cross population of beef and dairy cattle. *J Anim Sci* 87:24–36. doi: 10.2527/jas.2008-0922
- Hanotte O, Ronin Y, Agaba M, Nilsson P, Gelhaus A, Horstmann R, Sugimoto Y, Kemp S, Gibson J, Korol A et al. (2003) Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran cattle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:7443–8. doi: 10.1073/pnas.1232392100
- Hawken RJ, Zhang YD, Fortes MRS, Collis E, Barris WC, Corbet NJ, Williams PJ, Fordyce G, Holroyd RG, Walkley JRW et al. (2012) Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. *J Anim Sci* 90:1398–410. doi: 10.2527/jas.2011-4410
- Hayes B and Goddard M (2010) Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. *Genome / Natl Res Counc Canada = Génome / Cons Natl Rech Canada* 53:876–83. doi: 10.1139/G10-076
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain a J and Goddard ME (2009) Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *J Dairy Sci* 92:433–443. doi: 10.3168/jds.2008-1646

- Head B, Griparic L, Amiri M, Gandre-Babbe S and van der Blik AM (2009) Inducible proteolytic inactivation of OPA1 mediated by the OMA1 protease in mammalian cells. *J Cell Biol* 187:959–66. doi: 10.1083/jcb.200906083
- Hemavathy K, Guru SC, Harris J, Chen JD and Ip YT (2000) Human Slug is a repressor that localizes to sites of active transcription. *Mol Cell Biol* 20:5087–95.
- Hirschhorn JN and Daly MJ (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 6:95–108. doi: 10.1038/nrg1521
- Hoashi S, Hinenoya T, Tanaka A, Ohsaki H, Sasazaki S, Taniguchi M, Oyama K, Mukai F and Mannen H (2008) Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese black cattle. *BMC Genet* 9:84. doi: 10.1186/1471-2156-9-84
- Hoshihara H, Setoguchi K, Watanabe T, Kinoshita A, Mizoshita K, Sugimoto Y and Takasuga A (2013) Comparison of the effects explained by variations in the bovine PLAG1 and NCAPG genes on daily body weight gain, linear skeletal measurements and carcass traits in Japanese Black steers from a progeny testing program. *Anim Sci J = Nihon chikusan Gakkaiho* 84:529–34. doi: 10.1111/asj.12033
- Hou G-Y, Yuan Z-R, Zhou H-L, Zhang L-P, Li J-Y, Gao X, Wang D-J, Gao H-J and Xu S-Z (2011) Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Mol Biol Rep* 38:4705–4708. doi: 10.1007/s11033-010-0605-1
- Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL and Spurlock ME (1998) The Biology of Leptin: A Review. *J Anim Sci* 76:1405–1420. doi: /1998.7651405x
- Houseknecht KL and Portocarrero CP (1998) Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol* 15:457–75.
- Huang W, Peñagaricano F, Ahmad KR, Lucey JA, Weigel KA and Khatib H (2012) Association between milk protein gene variants and protein composition traits in dairy cattle. *J Dairy Sci* 95:440–9. doi: 10.3168/jds.2011-4757
- Hughes SM and Schiaffino S (1999) Control of muscle fibre size: a crucial factor in ageing. *Acta Physiol Scand* 167:307–12. doi: 10.1046/j.1365-201x.1999.00622.x
- Hunt TW, Fields TA, Casey PJ and Peralta EG (1996) RGS10 is a selective activator of G alpha i GTPase activity. *Nature* 383:175–7. doi: 10.1038/383175a0
- Illumina Inc. (2016) BovineSNP50 Genotyping BeadChip. In: [http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_bovine\\_snp50.pdf](http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf).
- Imumorin IG, Kim E-H, Lee Y-M, De Koning D-J, van Arendonk J a., De Donato M, Taylor JF and Kim J-J (2011) Genome Scan for Parent-of-Origin QTL Effects on Bovine Growth and Carcass Traits. *Front Genet* 2:44. doi: 10.3389/fgene.2011.00044
- International Mouse Phenotyping Consortium (2016) IMPC | International Mouse Phenotyping Consortium. In: IMPC. <https://www.mousephenotype.org/>. Accessed 6 Mar 2016
- Ishimi Y (1997) A DNA helicase activity is associated with an MCM4, -6, and -7 protein complex. *J Biol Chem* 272:24508–13.
- Islam KK, Vinsky M, Crews RE, Okine E, Moore SS, Crews DH and Li C (2009) Association analyses of a SNP in the promoter of IGF1 with fat deposition and carcass merit traits in hybrid, Angus and Charolais beef cattle. *Anim Genet* 40:766–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01912.x
- Itoh F, Komatsu T, Yonai M, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y and Hodate K (2005) GH secretory responses to ghrelin and GHRH in growing and lactating dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol* 28:34–45. doi: 10.1016/j.domaniend.2004.06.001
- Ji S, Willis GM, Scott RR and Spurlock ME (1998) Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. *Anim Biotechnol* 9:1–14. doi: 10.1080/10495399809525887

- Jones JI and Clemmons DR (1995) Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16:3–34. doi: 10.1210/edrv-16-1-3
- Kaiser FJ, Lüdecke H-J and Weger S (2007) SUMOylation modulates transcriptional repression by TRPS1. *Biol Chem* 388:381–90. doi: 10.1515/BC.2007.051
- Kaiser FJ, Möröy T, Chang GTG, Horsthemke B and Lüdecke H-J (2003) The RING finger protein RNF4, a co-regulator of transcription, interacts with the TRPS1 transcription factor. *J Biol Chem* 278:38780–5. doi: 10.1074/jbc.M306259200
- Kambadur R, Sharma M, Smith TP and Bass JJ (1997) Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res* 7:910–6.
- Kanai-Azuma M, Kanai Y, Gad JM, Tajima Y, Taya C, Kurohmaru M, Sanai Y, Yonekawa H, Yazaki K, Tam PPL et al. (2002) Depletion of definitive gut endoderm in Sox17-null mutant mice. *Development* 129:2367–2379.
- Karim L, Takeda H, Lin L, Druet T, Arias JAC, Baurain D, Cambisano N, Davis SR, Farnir F, Grisart B et al. (2011) Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing PLAG1 influence bovine stature. *Nat Genet* 43:405–13. doi: 10.1038/ng.814
- Kim JJ, Farnir F, Savell J and Taylor JF (2003) Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. *J Anim Sci* 81:1933–42.
- Klug A (2010) The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. *Annu Rev Biochem* 79:213–31. doi: 10.1146/annurev-biochem-010909-095056
- Kneeland J, Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Hansen C and Moore SS (2004) Identification and fine mapping of quantitative trait loci for growth traits on bovine chromosomes 2, 6, 14, 19, 21, and 23 within one commercial line of *Bos taurus*. *J Anim Sci* 82:3405–14.
- Komisarek J and Dorynek Z (2006) The relationship between the T945M single nucleotide polymorphism in the leptin receptor gene (LEPR) and milk production traits in Jersey cows. *Anim Sci Pap reports* 24:271–277.
- Kühn C, Thaller G, Winter A, Bininda-Emonds ORP, Kaupe B, Erhardt G, Bennewitz J, Schwerin M and Fries R (2004) Evidence for multiple alleles at the DGAT1 locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genetics* 167:1873–81. doi: 10.1534/genetics.103.022749
- Kulig H and Kmiec M (2009) Association between leptin gene polymorphisms and growth traits in Limousin cattle. *Genetika* 45:738–741. doi: 10.1134/S1022795409060131
- Larsson H, Elmståhl S, Berglund G and Åhrén B (1998) Evidence for leptin regulation of food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 83:4382–5. doi: 10.1210/jcem.83.12.5342
- Lee J-H, You J, Dobrota E and Skalnik DG (2010) Identification and characterization of a novel human PP1 phosphatase complex. *J Biol Chem* 285:24466–76. doi: 10.1074/jbc.M110.109801
- Lee K, Nguyen DT, Choi M, Cha S-Y, Kim J-H, Dadi H, Seo HG, Seo K, Chun T and Park C (2013) Analysis of cattle olfactory subgenome: the first detail study on the characteristics of the complete olfactory receptor repertoire of a ruminant. *BMC Genomics* 14:596. doi: 10.1186/1471-2164-14-596
- Lee KKH, Cai DQ, Tang MK, Tsang KF, Kwong WH and Chow PH (2003) Growth arrest-specific 2 gene expression during patellar tendon healing. *Cells Tissues Organs* 173:138–46. doi: 69473
- Lee SH, van der Werf JHJ, Hayes BJ, Goddard ME and Visscher PM (2008) Predicting unobserved phenotypes for complex traits from whole-genome SNP data. *PLoS Genet* 4:e1000231. doi: 10.1371/journal.pgen.1000231
- Lee SJ and McPherron AC (2001) Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9306–11. doi: 10.1073/pnas.151270098

- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Hansen C and Moore SS (2003) Assessment of positional candidate genes 5 and 1 for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of. *J Anim Sci* 82:1–7. doi: /2004.8211
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B and Moore SS (2002) The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *J Anim Sci* 80:1187–1194. doi: /2002.8051187x
- Liefers SC, te Pas MFW, Veerkamp RF, Chilliard Y, Delavaud C, Gerritsen R and van der Lende T (2003) Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows. *Mamm Genome* 14:657–663.
- Liefers SC, te Pas MFW, Veerkamp RF and van der Lende T (2002) Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. *J Dairy Sci* 85:1633–8. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74235-5
- Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MFW, Delavaud C, Chilliard Y and van der Lende T (2004) A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. *Anim Genet* 35:138–41. doi: 10.1111/j.1365-2052.2004.01115.x
- Lim HJ, Jeon Y, Jeon CH, Kim JH and Lee H (2011) Targeted disruption of *Mcm10* causes defective embryonic cell proliferation and early embryo lethality. *Biochim Biophys Acta* 1813:1777–83. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.05.012
- Lin D-W, Chang I-C, Tseng A, Wu M-L, Chen C-H, Patenaude CA, Layne MD and Yet S-F (2008) Transforming growth factor beta up-regulates cysteine-rich protein 2 in vascular smooth muscle cells via activating transcription factor 2. *J Biol Chem* 283:15003–14. doi: 10.1074/jbc.M801621200
- Lincoln TM, Dey N and Sellak H (2001) Invited review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: from the regulation of tone to gene expression. *J Appl Physiol* 91:1421–30.
- Lindholm-Perry AK, Kuehn LA, Smith TPL, Ferrell CL, Jenkins TG, Freetly HC and Snelling WM (2012a) A region on BTA14 that includes the positional candidate genes *LYPLA1*, *XKR4* and *TMEM68* is associated with feed intake and growth phenotypes in cattle(1). *Anim Genet* 43:216–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02232.x
- Lindholm-Perry AK, Kuehn LA, Snelling WM, Smith TPL, Ferrell CL, Jenkins TG, King DA, Shackelford SD, Wheeler TL and Freetly HC (2012b) Genetic markers on BTA14 predictive for residual feed intake in beef steers and their effects on carcass and meat quality traits. *Anim Genet* 43:599–603. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02307.x
- Littlejohn M, Grala T, Sanders K, Walker C, Waghorn G, Macdonald K, Coppieters W, Georges M, Spelman R, Hillerton E et al. (2011) Genetic variation in *PLAG1* associates with early life body weight and peripubertal weight and growth in *Bos taurus*. *Anim Genet* 43:591–4. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02293.x
- Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ and Efstratiadis A (1993) Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (*Igf-1*) and type 1 IGF receptor (*Igf1r*). *Cell* 75:59–72.
- Liu LA and Engvall E (1999) Sarcoglycan Isoforms in Skeletal Muscle. *J Biol Chem* 274:38171–38176. doi: 10.1074/jbc.274.53.38171
- Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR and Lechler RI (1998) Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394:897–902.
- Loweth AC, Williams GT, Scarpello JH and Morgan NG (1997) Evidence for the involvement of cGMP and protein kinase G in nitric oxide-induced apoptosis in the pancreatic B-cell line, HIT-T15. *FEBS Lett* 400:285–8.
- Lu H, Sun J, Xu Y, Xie D, Sun L and Shu X (2007) Association between the leptin receptor gene polymorphism and lipoprotein profile in Chinese type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* 1:259–265. doi: 10.1016/j.dsx.2007.09.008

Lüdecke HJ, Schaper J, Meinecke P, Momeni P, Gross S, von Holtum D, Hirche H, Abramowicz MJ, Albrecht B, Apacik C et al. (2001) Genotypic and phenotypic spectrum in tricho-rhino-phalangeal syndrome types I and III. *Am J Hum Genet* 68:81–91.

Lueders TN, Zou K, Huntsman HD, Meador B, Mahmassani Z, Abel M, Valero MC, Huey KA and Boppart MD (2011) The  $\alpha 7\beta 1$ -integrin accelerates fiber hypertrophy and myogenesis following a single bout of eccentric exercise. *AJP Cell Physiol* 301:C938–C946. doi: 10.1152/ajpcell.00515.2010

Lusk JL (2007) Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with body weight and backfat growth curve parameters for beef cattle. *J Anim Sci* 85:1865–72. doi: 10.2527/jas.2006-665

Machado MBB, Alencar MM, Pereira AP, Oliveira HN, Casas E, Coutinho LL and Regitano LCA (2003) QTL affecting body weight in a candidate region of cattle chromosome 5. *Genet Mol Biol* 26:259–265. doi: 10.1590/S1415-47572003000300008

MacLeod IM, Hayes BJ, Savin KW, Chamberlain a. J, McPartlan HC and Goddard ME (2010) Power of a genome scan to detect and locate quantitative trait loci in cattle using dense single nucleotide polymorphisms. *J Anim Breed Genet* 127:133–142. doi: 10.1111/j.1439-0388.2009.00831.x

Maffei M, Fei H, Lee GH, Dani C, Leroy P, Zhang Y, Proenca R, Negrel R, Ailhaud G and Friedman JM (1995a) Increased expression in adipocytes of ob RNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:6957–60.

Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S et al. (1995b) Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1:1155–1161. doi: 10.1038/nm1195-1155

Maina F and Klein R (1999) Hepatocyte growth factor, a versatile signal for developing neurons. *Nat Neurosci* 2:213–7. doi: 10.1038/6310

Maiorano D, Lutzmann M and Méchali M (2006) MCM proteins and DNA replication. *Curr Opin Cell Biol* 18:130–136. doi: 10.1016/j.ceb.2006.02.006

Maj A, Snochowski M, Siadkowska E, Rowinska B, Lisowski P, Robakowska-Hyzorek D, Oprzadek J, Grochowska R, Kochman K and Zwierzchowski L (2008) Polymorphism in genes of growth hormone receptor (GHR) and insulin-like growth factor-1 (IGF1) and its association with both the IGF1 expression in liver and its level in blood in Polish Holstein-Friesian cattle. *Neuro Endocrinol Lett* 29:981–9.

Malik TH, Shoichet SA, Latham P, Kroll TG, Peters LL and Shivdasani RA (2001) Transcriptional repression and developmental functions of the atypical vertebrate GATA protein TRPS1. *EMBO J* 20:1715–25. doi: 10.1093/emboj/20.7.1715

Maltecca C, Weigel KA, Khatib H, Cowan M and Bagnato A (2009) Whole-genome scan for quantitative trait loci associated with birth weight, gestation length and passive immune transfer in a Holstein x Jersey crossbred population. *Anim Genet* 40:27–34. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01793.x

Martinez GE, Koch RM, Cundiff L V, Gregory KE, Kachman SD and Van Vleck LD (2005) Genetic parameters for stayability, stayability at calving, and stayability at weaning to specified ages for Hereford cows. *J Anim Sci* 83:2033–42.

Martínez R, Tobón J and Gallego J (2012) Resistencia a enfermedades en la raza BON. Eficiencia productiva de la raza bon en el trópico colombiano. pp 88–109

Matsui T, Kanai-Azuma M, Hara K, Matoba S, Hiramatsu R, Kawakami H, Kurohmaru M, Koopman P and Kanai Y (2006) Redundant roles of Sox17 and Sox18 in postnatal angiogenesis in mice. *J Cell Sci* 119:3513–26. doi: 10.1242/jcs.03081

McClure MC, Morsci NS, Schnabel RD, Kim JW, Yao P, Rolf MM, McKay SD, Gregg SJ, Chapple RH, Northcutt SL et al. (2010) A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, post-natal

growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. *Anim Genet* 41:597–607. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02063.x

McPherron AC, Lawler AM and Lee S-J (1997) Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- $\beta$  superfamily member. *Nature* 387:83–90. doi: 10.1038/387083a0

McPherron AC and Lee SJ (1997) Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:12457–61.

Megeney LA and Rudnicki MA (1995) Determination versus differentiation and the MyoD family of transcription factors. *Biochem Cell Biol* 73:723–732. doi: 10.1139/o95-080

Mercier MS, Lodge D, Fang G, Nicolas CS, Collett VJ, Jane DE, Collingridge GL and Bortolotto ZA (2013) Characterisation of an mGlu8 receptor-selective agonist and antagonist in the lateral and medial perforant path inputs to the dentate gyrus. *Neuropharmacology* 67:294–303. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.11.020

Meuwissen T, Hayes B and Goddard M (2013) Accelerating improvement of livestock with genomic selection. *Annu Rev Anim Biosci* 1:221–37. doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103705

Meuwissen THE, Hayes BJ and Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819–1829. doi: 11290733

Michal JJ, Zhang ZW, Gaskins CT and Jiang Z (2006) 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* 37:400–2. doi: 10.1111/j.1365-2052.2006.01464.x

Miller S (2010) Genetic improvement of beef cattle through opportunities in genomics. *Rev Bras Zootec* 39:247–255. doi: 10.1590/S1516-35982010001300027

Miyazawa K (2010) Hepatocyte growth factor activator (HGFA): a serine protease that links tissue injury to activation of hepatocyte growth factor. *FEBS J* 277:2208–14. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07637.x

Mizoshita K, Watanabe T, Hayashi H, Kubota C, Yamakuchi H, Todoroki J and Sugimoto Y (2004) Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *J Anim Sci* 82:3415–20.

Morris CA, Pitchford WS, Cullen NG, Esmailzadeh AK, Hickey SM, Hyndman D, Dodds KG, Afolayan RA, Crawford AM and Bottema CDK (2009) Quantitative trait loci for live animal and carcass composition traits in Jersey and Limousin back-cross cattle finished on pasture or feedlot. *Anim Genet* 40:648–54. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01895.x

Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Oshima M, Takagi H, Miyagi S, Endoh M, Endo TA, Takayama N, Eto K, Toyoda T et al. (2013) Role of SOX17 in hematopoietic development from human embryonic stem cells. *Blood* 121:447–58. doi: 10.1182/blood-2012-05-431403

Nakamura T, Sakai K, Nakamura T and Matsumoto K (2010) Anti-cancer approach with NK4: Bivalent action and mechanisms. *Anticancer Agents Med Chem* 10:36–46. doi: 10.2174/1871520611009010036

Nakamura T, Sakai K, Nakamura T and Matsumoto K (2011) Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor. *J Gastroenterol Hepatol* 26 Suppl 1:188–202. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06549.x

Nakayama T, Higuchi T, Oiso N, Kawada A and Yoshie O (2012) Expression and function of FRA2/JUND in cutaneous T-cell lymphomas. *Anticancer Res* 32:1367–73.

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K and Matsukura S (2001) A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409:194–8. doi: 10.1038/35051587

Neufeld G, Cohen T, Shraga N, Lange T, Kessler O and Herzog Y (2002) The neuropilins: multifunctional semaphorin and VEGF receptors that modulate axon guidance and angiogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 12:13–9.

- Nijnik A, Clare S, Hale C, Raisen C, McIntyre RE, Yusa K, Everitt AR, Mottram L, Podrini C, Lucas M et al. (2012) The critical role of histone H2A-deubiquitinase Mym1 in hematopoiesis and lymphocyte differentiation. *Blood* 119:1370–9. doi: 10.1182/blood-2011-05-352666
- Nishimura S, Watanabe T, Mizoshita K, Tatsuda K, Fujita T, Watanabe N, Sugimoto Y and Takasuga A (2012) Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. *BMC Genet* 13:40. doi: 10.1186/1471-2156-13-40
- Nkrumah JD, Li C, Yu J, Hansen C, Keisler DH and Moore SS (2005) Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *J Anim Sci* 83:20–28. doi: /2005.83120x
- Nkrumah JD, Sherman EL, Li C, Marques E, Crews DH, Bartusiak R, Murdoch B, Wang Z, Basarab JA and Moore SS (2007) Primary genome scan to identify putative quantitative trait loci for feedlot growth rate, feed intake, and feed efficiency of beef cattle. *J Anim Sci* 85:3170–81. doi: 10.2527/jas.2007-0234
- Oprzadek J, Flisikowski K, Zwierzchowski L and E. D (2003) Polymorphisms at loci of leptin (LEP), Pit1 and STAT5A and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black and White bulls. *Anim Sci Pap Reports* 21:135–145.
- Othman OE, Zayed FA, El Gawead AA and El-Rahman MRA (2011) Genetic polymorphism of two genes associated with carcass trait in Egyptian buffaloes. *J Genet Eng Biotechnol* 9:15–20. doi: 10.1016/j.jgeb.2011.05.003
- Pacek M, Tutter A V, Kubota Y, Takisawa H and Walter JC (2006) Localization of MCM2-7, Cdc45, and GINS to the site of DNA unwinding during eukaryotic DNA replication. *Mol Cell* 21:581–7. doi: 10.1016/j.molcel.2006.01.030
- Pereira AP, Alencar MM de, Oliveira HN de and Regitano LC de A (2005) Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. *Genet Mol Biol* 28:230–236. doi: 10.1590/S1415-47572005000200009
- Phan LK, Chung WK and Leibel RL (2006) The mahoganoid mutation (Mgn1md) improves insulin sensitivity in mice with mutations in the melanocortin signaling pathway independently of effects on adiposity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E611–20. doi: 10.1152/ajpendo.00034.2006
- Pilz RB and Broderick KE (2005) Role of cyclic GMP in gene regulation. *Front Biosci* 10:1239–68.
- Piva R, Manfredini C, Lambertini E, Torreggiani E, Penolazzi L, Gambari R, Pastore A, Pelucchi S, Gabusi E, Piacentini A et al. (2011) Slug contributes to the regulation of CXCL12 expression in human osteoblasts. *Exp Cell Res* 317:1159–68. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.12.011
- Porto Neto LR, Bunch RJ, Harrison BE and Barendse W (2012) Variation in the XKR4 gene was significantly associated with subcutaneous rump fat thickness in indicine and composite cattle. *Anim Genet* 43:785–9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02330.x
- Quirós PM, Ramsay AJ, Sala D, Fernández-Vizarra E, Rodríguez F, Peinado JR, Fernández-García MS, Vega JA, Enríquez JA, Zorzano A et al. (2012) Loss of mitochondrial protease OMA1 alters processing of the GTPase OPA1 and causes obesity and defective thermogenesis in mice. *EMBO J* 31:2117–33. doi: 10.1038/emboj.2012.70
- Rhoads ML, Meyer JP, Kolath SJ, Lamberson WR and Lucy MC (2008) Growth hormone receptor, insulin-like growth factor (IGF)-1, and IGF-binding protein-2 expression in the reproductive tissues of early postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 91:1802–13. doi: 10.3168/jds.2007-0664
- Ricke RM and Bielinsky A-K (2004) Mcm10 regulates the stability and chromatin association of DNA polymerase-alpha. *Mol Cell* 16:173–85. doi: 10.1016/j.molcel.2004.09.017
- Rincon G, Farber EA, Farber CR, Nkrumah JD and Medrano JF (2009) Polymorphisms in the STAT6 gene and their association with carcass traits in feedlot cattle. *Anim Genet* 40:878–882. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01934.x

Robakowska-Hyzorek D, Oprzadek J, Zelazowska B, Olbromski R and Zwierzchowski L (2010) Effect of the g.-723G-->T polymorphism in the bovine myogenic factor 5 (Myf5) gene promoter region on gene transcript level in the longissimus dorsi muscle and on meat traits of Polish Holstein-Friesian cattle. *Biochem Genet* 48:450–64. doi: 10.1007/s10528-009-9328-1

Robinson PA, Brown S, Grath MJMC, Coghill ID, Gurung R, Mitchell CA, Paul A, Brown S, Meagan J, Coghill ID et al. (2003) Skeletal muscle LIM protein 1 regulates integrin- mediated myoblast adhesion , spreading , and migration. *Am J Physiol* 284:681–695. doi: 10.1152/ajpcell.00370.2002

Rolf MM, Taylor JF, Schnabel RD, McKay SD, McClure MC, Northcutt SL, Kerley MS and Weaber RL (2012) Genome-wide association analysis for feed efficiency in Angus cattle. *Anim Genet* 43:367–74. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02273.x

Rolf MM, Taylor JF, Schnabel RD, McKay SD, McClure MC, Northcutt SL, Kerley MS and Weaber RL (2010) Impact of reduced marker set estimation of genomic relationship matrices on genomic selection for feed efficiency in Angus cattle. *BMC Genet* 11:24. doi: 10.1186/1471-2156-11-24

Saatchi M, Schnabel RD, Taylor JF and Garrick DJ (2014) Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate within and across ten US cattle breeds. *BMC Genomics* 15:442. doi: 10.1186/1471-2164-15-442

Sabaliauskas N, Shen H, Homanics GE, Smith SS and Aoki C (2012) Knockout of the  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor subunit  $\alpha 4$  reduces functional  $\delta$ -containing extrasynaptic receptors in hippocampal pyramidal cells at the onset of puberty. *Brain Res* 1450:11–23. doi: 10.1016/j.brainres.2012.02.035

Sadri H, Mielenz M, Morel I, Bruckmaier RM and van Dorland HA (2011) Plasma leptin and mRNA expression of lipogenesis and lipolysis-related factors in bovine adipose tissue around parturition. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 95:790–7. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01111.x

Sarti FM, Lasagna E, Ceccobelli S, Di Lorenzo P, Filippini F, Sbarra F, Giontella A, Pieramati C and Panella F (2014) Influence of single nucleotide polymorphisms in the myostatin and myogenic factor 5 muscle growth-related genes on the performance traits of Marchigiana beef cattle. *J Anim Sci* 92:3804–10. doi: 10.2527/jas.2014-7669

Schaeffer LR (2006) Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *J Anim Breed Genet* 123:218–23. doi: 10.1111/j.1439-0388.2006.00595.x

Scharf B, Carroll JA, Riley DG, Chase CC, Coleman SW, Keisler DH, Weaber RL and Spiers DE (2010) Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant (Romosinuano) and heat-susceptible (Angus) *Bos taurus* cattle during controlled heat challenge. *J Anim Sci* 88:2321–36. doi: 10.2527/jas.2009-2551

Schenkel FS, Miller SP, Moore SS, Li C, Fu A, Lobo S, Mandell IB and Wilton JW (2006) Association of SNPs in the leptin and leptin receptor genes with different fat depots in beef cattle. *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006. Instituto Prociência, pp 03–80*

Schmidt C, Bladt F, Goedecke S, Brinkmann V, Zschiesche W, Sharpe M, Gherardi E and Birchmeier C (1995) Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 373:699–702. doi: 10.1038/373699a0

Schmutz I, Wendt S, Schnell A, Kramer A, Mansuy IM and Albrecht U (2011) Protein phosphatase 1 (PP1) is a post-translational regulator of the mammalian circadian clock. *PLoS One* 6:e21325. doi: 10.1371/journal.pone.0021325

Schnabel RD, Sonstegard TS, Taylor JF and Ashwell MS (2005) Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. *Anim Genet* 36:408–16. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01337.x

Schneider C, King RM and Philipson L (1988) Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell* 54:787–93.

- Schopen GCB, Koks PD, van Arendonk JAM, Bovenhuis H and Visker MHPW (2009) Whole genome scan to detect quantitative trait loci for bovine milk protein composition. *Anim Genet* 40:524–37. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01880.x
- Schrooten C, Bovenhuis H, Coppieters W and Van Arendonk JA (2000) Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. *J Dairy Sci* 83:795–806. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74942-3
- Sellak H, Lincoln TM and Choi C-S (2011) Stabilization of cGMP-dependent protein kinase G (PKG) expression in vascular smooth muscle cells: contribution of 3'UTR of its mRNA. *J Biochem* 149:433–41. doi: 10.1093/jb/mvr003
- Shanado Y, Kometani M, Uchiyama H, Koizumi S and Teno N (2004) Lysophospholipase I identified as a ghrelin deacylation enzyme in rat stomach. *Biochem Biophys Res Commun* 325:1487–94. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.10.193
- Sharma A, Lee JS, Dang CG, Sudrajad P, Kim HC, Yeon SH, Kang HS and Lee S-H (2015) Stories and Challenges of Genome Wide Association Studies in Livestock - A Review. *Asian-Australasian J Anim Sci* 28:1371–9. doi: 10.5713/ajas.14.0715
- Shenolikar S (1994) Protein serine/threonine phosphatases--new avenues for cell regulation. *Annu Rev Cell Biol* 10:55–86. doi: 10.1146/annurev.cb.10.110194.000415
- Sherman EL, Nkrumah JD, Li C, Bartusiak R, Murdoch B and Moore SS (2009) Fine mapping quantitative trait loci for feed intake and feed efficiency in beef cattle. *J Anim Sci* 87:37–45. doi: 10.2527/jas.2008-0876
- Sherman EL, Nkrumah JD, Murdoch BM and Moore SS (2008) Identification of polymorphisms influencing feed intake and efficiency in beef cattle. *Anim Genet* 39:225–31. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01704.x
- Shibata M, Matsumoto K, Aikawa K, Muramoto T, Fujimura S and Kadowaki M (2006) Gene expression of myostatin during development and regeneration of skeletal muscle in Japanese Black Cattle. *J Anim Sci* 84:2983–9. doi: 10.2527/jas.2006-118
- Shimojo T, Hiroe M, Ishiyama S, Ito H, Nishikawa T and Marumo F (1999) Nitric oxide induces apoptotic death of cardiomyocytes via a cyclic-GMP-dependent pathway. *Exp Cell Res* 247:38–47. doi: 10.1006/excr.1998.4310
- Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, Hayashi T, Inoue G, Hosoda K, Kojima M et al. (2001) Ghrelin, an Endogenous Growth Hormone Secretagogue, Is a Novel Orexigenic Peptide That Antagonizes Leptin Action Through the Activation of Hypothalamic Neuropeptide Y/Y1 Receptor Pathway. *Diabetes* 50:227–232. doi: 10.2337/diabetes.50.2.227
- Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn L a., McDanel T, Smith TPL, Sonstegard TS, Thallman RM and Bennett GL (2010) Genome-wide association study of growth in crossbred beef cattle. *J Anim Sci* 88:837–848. doi: 10.2527/jas.2009-2257
- Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn LA, Thallman RM, Bennett GL, Ferrell CL, Jenkins TG, Freetly HC, Nielsen MK et al. (2011) Partial-genome evaluation of postweaning feed intake and efficiency of crossbred beef cattle. *J Anim Sci* 89:1731–41. doi: 10.2527/jas.2010-3526
- Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G and Klagsbrun M (1998) Neuropilin-1 Is Expressed by Endothelial and Tumor Cells as an Isoform-Specific Receptor for Vascular Endothelial Growth Factor. *Cell* 92:735–745. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81402-6
- Suemoto H, Muragaki Y, Nishioka K, Sato M, Ooshima A, Itoh S, Hatamura I, Ozaki M, Braun A, Gustafsson E et al. (2007) Trps1 regulates proliferation and apoptosis of chondrocytes through Stat3 signaling. *Dev Biol* 312:572–81. doi: 10.1016/j.ydbio.2007.10.001
- Sugimoto M, Watanabe T and Sugimoto Y (2012) The molecular effects of a polymorphism in the 5'UTR of solute carrier family 44, member 5 that is associated with birth weight in Holsteins. *PLoS One* 7:e41267. doi: 10.1371/journal.pone.0041267

Sulpice E, Plouët J, Bergé M, Allanic D, Tobelem G and Merkulova-Rainon T (2008) Neuropilin-1 and neuropilin-2 act as coreceptors, potentiating proangiogenic activity. *Blood* 111:2036–45. doi: 10.1182/blood-2007-04-084269

Surmann-Schmitt C, Dietz U, Kireva T, Adam N, Park J, Tagariello A, Onnerfjord P, Heinegård D, Schlötzer-Schrehardt U, Deutzmann R et al. (2008) Ucm, a novel secreted cartilage-specific protein with implications in osteogenesis. *J Biol Chem* 283:7082–93. doi: 10.1074/jbc.M702792200

Tagariello A, Luther J, Streiter M, Didt-Kozziel L, Wuelling M, Surmann-Schmitt C, Stock M, Adam N, Vorkamp A and Winterpacht A (2008) Ucm--A novel secreted factor represents a highly specific marker for distal chondrocytes. *Matrix Biol* 27:3–11. doi: 10.1016/j.matbio.2007.07.004

te Pas MF, Harders FL, Soumillon A, Born L, Buist W and Meuwissen TH (1999) Genetic variation at the porcine MYF-5 gene locus. Lack Of association with meat production traits. *Mamm Genome* 10:123–7.

Tetens J, Seidenspinner T, Buttchereit N and Thaller G (2013) Whole-genome association study for energy balance and fat/protein ratio in German Holstein bull dams. *Anim Genet* 44:1–8. doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02357.x

Thomas M, Langley B, Berry C, Sharma M, Kirk S, Bass J and Kambadur R (2000) Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *J Biol Chem* 275:40235–43. doi: 10.1074/jbc.M004356200

Thomas NK, Wright RA, Howson PA, Kingston AE, Schoepp DD and Jane DE (2001) (S)-3,4-DCPG, a potent and selective mGlu8a receptor agonist, activates metabotropic glutamate receptors on primary afferent terminals in the neonatal rat spinal cord. *Neuropharmacology* 40:311–8.

Tizoto PC, Meirelles SL, Tulio RR, Rosa AN, Alencar MM, Medeiros SR, Siqueira F, Feij?? GL, Silva LO, Torres Junior RA et al. (2012) Candidate genes for production traits in Nelore beef cattle. *Genet Mol Res* 11:4138–4144. doi: 10.4238/2012.September.19.1

Touvier T, Conte-Auriol F, Briand O, Cudejko C, Paumelle R, Caron S, Baugé E, Rouillé Y, Salles J-P, Staels B et al. (2009) LEPROT and LEPROTL1 cooperatively decrease hepatic growth hormone action in mice. *J Clin Invest* 119:3830–8. doi: 10.1172/JCI34997

Trakovická A, Moravčíková N and Kasarda R (2013) Genetic polymorphisms of leptin and leptin receptor genes in relation with production and reproduction traits in cattle. *Acta Biochim Pol* 60:783–7.

Tschöp M, Smiley DL and Heiman ML (2000) Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407:908–13. doi: 10.1038/35038090

Tuggle CK and Trenkle A (1996) Control of growth hormone synthesis. *Domest Anim Endocrinol* 13:1–33.

Uehara Y, Minowa O, Mori C, Shiota K, Kuno J, Noda T and Kitamura N (1995) Placental defect and embryonic lethality in mice lacking hepatocyte growth factor/scatter factor. *Nature* 373:702–5. doi: 10.1038/373702a0

UniProt (2016) UniProt. <http://www.uniprot.org/>. Accessed 17 Mar 2016

VanRaden PM, Van Tassell CP, Wiggans GR, Sonstegard TS, Schnabel RD, Taylor JF and Schenkel FS (2009) Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *J Dairy Sci* 92:16–24. doi: 10.3168/jds.2008-1514

Vásquez R, Martínez R, Rodríguez O, Ballesteros H, Ossa G, Abuabara Y, Pérez J, Neira J, Onofre G, Polanco N et al. (2007) Manual de conservación, multiplicación y mejoramiento de las razas bovinas Criollas colombianas, 1ra ed. Produmedios, Mosquera (Cundinamarca)

Velazquez MA, Spicer LJ and Wathes DC (2008) The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. *Domest Anim Endocrinol* 35:325–42. doi: 10.1016/j.domaniend.2008.07.002

- Visscher PM, Macgregor S, Benyamin B, Zhu G, Gordon S, Medland S, Hill WG, Hottenga J-J, Willemsen G, Boomsma DI et al. (2007) Genome partitioning of genetic variation for height from 11,214 sibling pairs. *Am J Hum Genet* 81:1104–10. doi: 10.1086/522934
- Wang T, Nandakumar V, Jiang X-X, Jones L, Yang A-G, Huang XF and Chen S-Y (2013) The control of hematopoietic stem cell maintenance, self-renewal, and differentiation by Mym1-mediated epigenetic regulation. *Blood* 122:2812–22. doi: 10.1182/blood-2013-03-489641
- Wechsler T, Chen BPC, Harper R, Morotomi-Yano K, Huang BCB, Meek K, Cleaver JE, Chen DJ and Wabl M (2004) DNA-PKcs function regulated specifically by protein phosphatase 5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:1247–52. doi: 10.1073/pnas.0307765100
- Wehner M, Clemens PR, Engel AG and Killmann MW (1994) Human muscle glycogenosis due to phosphorylase kinase deficiency associated with a nonsense mutation in the muscle isoform of the  $\alpha$  subunit. *Hum Mol Genet* 3:1983–1987. doi: 10.1093/hmg/3.11.1983
- Wertz-Lutz AE, Jennings JS and Clapper JA (2010) Plasma ghrelin concentrations of beef cattle consuming a similar amount of dietary energy supplied by different ingredients. *J Anim Sci* 88:2289–99. doi: 10.2527/jas.2009-2447
- Wheeler MT and McNally EM (2003) Sarcoglycans in vascular smooth and striated muscle. *Trends Cardiovasc Med* 13:238–43.
- Wibowo TA, Michal JJ and Jiang Z (2007) Corticotropin releasing hormone is a promising candidate gene for marbling and subcutaneous fat depth in beef cattle. *Genome / Natl Res Counc Canada = Génome / Cons Natl Rech Canada* 50:939–45. doi: 10.1139/g07-075
- Wiener P, Maclean I, Williams JL and Woolliams JA (2000) Testing for the presence of previously identified QTL for milk production traits in new populations. *Anim Genet* 31:385–395. doi: 10.1046/j.1365-2052.2000.00689.x
- Wilcox MD, Schey KL, Busman M and Hildebrandt JD (1995) Determination of the complete covalent structure of the gamma 2 subunit of bovine brain G proteins by mass spectrometry. *Biochem Biophys Res Commun* 212:367–74. doi: 10.1006/bbrc.1995.1979
- Winkelman a. M, Johnson DL and Harris BL (2015) Application of genomic evaluation to dairy cattle in New Zealand. *J Dairy Sci* 98:659–675. doi: 10.3168/jds.2014-8560
- Winter A, Alzinger A and Fries R (2004) Assessment of the gene content of the chromosomal regions flanking bovine DGAT1. *Genomics* 83:172–180. doi: 10.1016/S0888-7543(03)00238-6
- Wong LE, Reynolds AB, Dissanayaka NT and Minden A (2010) p120-catenin is a binding partner and substrate for Group B Pak kinases. *J Cell Biochem* 110:1244–54. doi: 10.1002/jcb.22639
- Woods SC (1998) Signals That Regulate Food Intake and Energy Homeostasis. *Science* (80-) 280:1378–1383. doi: 10.1126/science.280.5368.1378
- Wrann CD, Eguchi J, Bozec A, Xu Z, Mikkelsen T, Gimble J, Nave H, Wagner EF, Ong S-E and Rosen ED (2012) FOSL2 promotes leptin gene expression in human and mouse adipocytes. *J Clin Invest* 122:1010–21. doi: 10.1172/JCI58431
- Wu S, Grunwald T, Kharitonov A, Dam J, Jockers R and De Luca F (2013) Increased expression of fibroblast growth factor 21 (FGF21) during chronic undernutrition causes growth hormone insensitivity in chondrocytes by inducing leptin receptor overlapping transcript (LEPROT) and leptin receptor overlapping transcript-like 1 (LE). *J Biol Chem* 288:27375–83. doi: 10.1074/jbc.M113.462218
- You Z, Komamura Y and Ishimi Y (1999) Biochemical analysis of the intrinsic Mcm4-Mcm6-mcm7 DNA helicase activity. *Mol Cell Biol* 19:8003–15.
- Yuan ZR and Xu SZ (2011) Novel SNPs of the bovine CACNA2D1 gene and their association with carcass and meat quality traits. *Mol Biol Rep* 38:365–70. doi: 10.1007/s11033-010-0117-z
- Yun EJ and Vu TH (2012) mSmile is necessary for bronchial smooth muscle and alveolar myofibroblast development. *Anat Rec (Hoboken)* 295:167–76. doi: 10.1002/ar.21475

---

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. doi: 10.1186/2049-1891-3-26

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L and Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372:425–32. doi: 10.1038/372425a0

Zhao F-Q, McFadden TB, Wall EH, Dong B and Zheng Y-C (2005) Cloning and expression of bovine sodium/glucose cotransporter SGLT2. *J Dairy Sci* 88:2738–48. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72953-2

## A. Anexo: QTL y genes asociados a las regiones de interés.

<i>BTA</i>	Ventana QTL (Mb)	Raza	Rasgo	%gVar <sup>1</sup>	Anotaciones PGC <sup>2</sup> (pb)	QTLs reportados <sup>3</sup>
2	4,125005 - 4,238852	ROMO	P24m	0,16	HS6ST1 (2:4111871-4149372) UGGT1 (2:4222280-4333499) SAP130 (2:4384059-4461737) MSTN (2:6213566-6220196)	QTL #2751 (2:2.7-5.3) Body weight (birth) (Casas et al. 1998) QTL #15718 (2:2.7-4.4) Body weight (weaning) (Imumorin et al. 2011) QTL #15719 (2:3.9-4.4) Body weight (yearling) (Imumorin et al. 2011) QTL #15720 (2:3.9-4.4) Body weight (slaughter) (Imumorin et al. 2011)
2	78,302162 - 78,405537	ROMO	P16m	0,23	LOC101904521 (2:78151178-78239890)	QTL #10670 (2:49.3-85.1) Body weight (birth) (McClure et al. 2010)
2	108,792569 - 108,869015	ROMO	P24m	0,17	LOC101907638 (2:108842678-108876328) IGFBP2 (2:105338358-105367086) IGFBP5 (2:105374629-105397832)	no existen QTL reportados
3	79,480234 - 79,581142	BON	PN	0,19	PDE4B (3:79284892-79734387) MGC137454 (3:79604573-79876392) LEPR (3:80071689-80167592) LEPROT (3:80243034-80255880)	QTL #15717 (3:78.3-83.2) Body weight (birth) (Imumorin et al. 2011) QTL #1300 (3:78.3-83.3 ) Body weight (birth) (Kim et al. 2003) QTL #4342 (3:79.3-79.5) Dry matter intake (Nkrumah et al. 2007)
3	87,809919 - 87,904203	ROMO	PD	0,16	LOC100294994 (3:87803439-87839771) JUN (3:87841042-87843089) MYSM1 (3:87924681-87966277) TACSTD2 (3:88032558-88034392) OMA1 (3:88054070-88119290)	QTL #30797 (3:86.5-97.5Mb) Body weight (birth) (Sugimoto et al. 2012)

BTA	Ventana QTL (Mb)	Raza	Rasgo	%gVar <sup>1</sup>	Anotaciones PGC <sup>2</sup> (pb)	QTLs reportados <sup>3</sup>
4	20,395856 - 20,51026	ROMO	P16m	0,25	ARL4A-ADP (4:20295479-20299308) SCIN (4:20153058-20233814) TMEM106B (4:19893089-19920684) THSD7A (4:19451228-19727594)	QTL#10708 (4:11.0-35.1) Body weight (weaning) (McClure et al. 2010) QTL#10712 (4:11.0-32.2) Height (mature) (McClure et al. 2010) QTL #10709 (4:11.0-32.2) Height (yearling) (McClure et al. 2010) QTL #10710 (4:19.1-32.2) Body weight (yearling) (McClure et al. 2010) QTL #2544 (4:0.8-22.4) Average daily gain.(Casas et al. 2001) QTL #5270 (4:9.2-21.4) Residual feed intake (Sherman et al. 2009)
4	20,395856 - 20,51026	ROMO	PD	0,30		
4	39,120348 - 39,283065	ROMO	P16m	0,17	HGF (4: 39115772-39201185) CACNA2D1 (4:38338653-38860701)	QTL #15723 (4:32.3-42.0)Body weight (slaughter) (Imumorin et al. 2011) QTL #25228 (4:39.1-39.2) Average daily gain (Cai et al. 2013) QTL #25227 (4:39.1-39.2) Body length (Cai et al. 2013)
4	39,120348 - 39,283065	ROMO	PD	0,15		
4	91,127591 - 91,22755	ROMO	PN	0,28	GRM8 (4:91470676-92326849) LOC101904719 (4:91991477-92050192) ZNF800 (4:92394410-92445382) FSCN3 (4:92629483-92637821) ARF5 (4:92624349-92627378) GCC1 (4:92617109-92620507) PAX4 (4:92641359-92648096) SND1 (4:92679169-93108508) LEP (4:93249803-93266625)	QTL #31174 (4:91.1-91.7) Milk fat yield (Trakovická et al 2013) QTL #31173 (4:91.1-91.7) Milk protein yield (Trakovická et al 2013) QTL #31172 (4:91.1-91.7) Milk yield (Trakovická et al 2013)
4	92,054359 - 92,176712	BON	P16m	0,18		
5	2,098613 - 2,193788	ROMO	PN	0,15	TRHDE (5:1907925-2352693)	QTL #3398 (5:1.6-4.5) Average daily gain (Li et al. 2002)
5	6,462823 - 6,550831	ROMO	PN	0,17	E2F7 (5:6428155-6467406) CSRP2 (5:6266101-6274473) ZDHHC17 (5:6160014-6258264)	QTL #3403 (5:4.5-9.5) Average daily gain (Li et al. 2002) QTL #3399 (5:4.5-9.5) Pre-weaning average daily gain (Li et al. 2002)
5	10,511028 - 10,660785	ROMO	PN	0,17	MYF6 (5:10330469-10331983) MYF5 (5:10335520-10342661) LIN7A (5:10409387-10566010)	QTL #3397 (5:9.5-14.5) Body weight (birth) (Li et al. 2002) QTL # 10724 (5:9.5-13.7) Body weight (weaning) (McClure et al. 2010)
5	17,995212 - 18,075032	ROMO	P16m	0,43	CEP290 (5:17902267-17998616) TMTC3 (5:17998738-18050493) KITLG (5:18317748-18377444)	QTL #10727 (5:13.7-18.4) Height (mature) (McClure et al. 2010)
5	17,995212 - 18,075032	ROMO	P24m	0,45		QTL #10726 (5:13.7-18.4) Height (yearling) (McClure et al. 2010)
5	17,995212 - 18,075032	ROMO	PD	0,41		

<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>Raza</b>	<b>Rasgo</b>	<b>%gVar<sup>1</sup></b>	<b>Anotaciones PGC<sup>2</sup> (pb)</b>	<b>QTLs reportados<sup>3</sup></b>
5	40,512359 - 40,580237	BON	P24m	0,21	CNTN1 (5:39996167-40401976) MUC19 (5:40558539-40686519) LOC534391 (5:40657905-40659151) LRRK2 (5:40703011-40916507)	QTL #4622 (5:37.4-57.7) Stature (Schrooten et al., 2000) QTL #20553 (5:18.8-60.7) Body weight (slaughter) (Baeza et al., 2011) QTL #3401 (5:37.4-44.5) Average daily gain (Li et al. 2002) QTL #2762 (5:36.2-44.9) Body weight (yearling) (Machado et al., 2003) QTL #15725 (5:36.2-44.9) Body weight (yearling) (Imumorin et al., 2011) QTL #4686 (5:37.4-57.7) Body size (Schrooten et al., 2000) QTL #4627 (5:37.4-57.7) Body weight (birth) (Schrooten et al., 2000)
5	57,953405 - 58,282365	BON	P16m	0,13	METTL7B (5:57898626-57901548) OR10P1 (5:57952735-57953673) OR6C4 (5:57967843-57968778) ....mas otros 15 genes de olfactory receptors ITGA7 (5:57873912-57898670) CD63 (5:57854278-57857485) STAT6 (5:56657971-56671477) IGF1 (5:66523798-66604781)	QTL #20553 (5:18.8-60.7) Body weight (slaughter) (Baeza et al., 2011) QTL #10743 (5:57.7-58.3) Body weight (birth) (McClure et al. 2010)
5	76,724602 - 76,811165	BON	PN	0,14	SYT10 (5:76692598-76808969) IGF1 (5:66523798-66604781)	no existen QTL reportados
5	80,504904 - 80,664902	BON	PN	0,13	TMTC1 (5:80191843-80498478) OVCH1 (5:80508247-80601232) ERGIC2 (5:80616119-80659413) FAR2 (5:80664297-80840993)	no existen QTL reportados
6	67,170035 - 67,239769	BON	PD	0,20	GABRA4 (6:67147450-67222189) GABRB1 (6:67261248-67716143) COX7B2 (6:66982102-67118236)	QTL #20592 (6:18.8-88.6) Milk protein content (Huang et al., 2012) QTL #20575 (6:18.8-88.6) Milk kappa-casein content (Huang et al., 2012)
6	82,480772 - 82,605943	BON	PN	0,15	LOC515240 (6:82521794-82523043) EPHA5 (6:82555302-82965077)	QTL #20592 (6:18.8-88.6) Milk protein content (Huang et al., 2012) QTL #20575 (6:18.8-88.6) Milk kappa-casein content (Huang et al., 2012)

<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>Raza</b>	<b>Rasgo</b>	<b>%gVar<sup>1</sup></b>	<b>Anotaciones PGC<sup>2</sup> (pb)</b>	<b>QTLs reportados<sup>3</sup></b>
9	24,949214 - 25,060966	ROMO	P24m	0,27	CENPW (9:25279310-25279586) MIR2284O (9:25474384-25474444) LOC101908069 (9:24796026-24796946)	QTL #3738 (9:11.6-26.7) Milk yield (Wiener et al., 2000) QTL #3754 (9:19.4-26.7) Milk protein yield (Wiener et al., 2000). QTL #1687 (9:18.2-26.7) Milk fat yield (Schnabel et al., 2005) QTL #1689 (9:18.2-26.7) Milk protein yield (Schnabel et al., 2005)
9	86,791475 - 86,880605	ROMO	P16m	0,18	SASH1 (9:86740565-87001714)	no existen QTL reportados
9	87,689696 - 87,843841	ROMO	P16m	0,14	TAB2 (9:87740176-87800398) UST (9:87158385-87475093) ZC3H12D (9:87839006-87872544)	no existen QTL reportados
10	44,362494 - 44,481175	BON	P24m	0,14	FRMD6 (10: 44342323-44615295) LOC100847537 (10:44527066-44528249) GNG2 (10:44711724-44844977) TMX1 (10:44101816-44114905)	QTL #10875 (10:38.4-52.2) Height (yearling) (McClure et al., 2010)
11	2,10883 - 2,195687	ROMO	P24m	0,16	GPAT2 (11:2130833-2142786) FAHD2A (11:2119290-2130742) ENSBTAG00000011553 (11:2119290-2130742) ADRA2B (11:2221056-2222399)	no existen QTL reportados
11	20,783316 - 20,897395	BON	P24m	0,15	ATL2 (11:20689940-20759066) LOC100847282 (11:20852848-20853449) LOC783737 (11:20896989-20899244) HNRNPLL (11:20928865-20967257)	QTL #10894 (11:20.5-23.4) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010)
11	59,319163 - 59,421902	ROMO	P16m	0,17	LRRTM4 (11:58431117-59433543) LOC101907899 (11:59636566-59637944)	QTL #15731 (11:32.7-66.1) Body weight (weaning) (Imumorin et al., 2011)
11	59,319163 - 59,421902	ROMO	PD	0,24		QTL #10904 (11:45.7-70.1) Body weight (mature) (McClure et al. 2010) QTL #10905 (11:57.7-62.1) Body weight (weaning) (McClure et al. 2010)
11	70,83008 - 71,090191	BON	P16m	0,15	WDR43 (11:70851857-70890950) TRMT61B (11:70900814-70914224) SPDYA (11:70913882-70953570) PPP1CB (11:70961030-70997556) PLB1 (11:71116626-71242857) FOSL2 (11:71326648-71349193)	QTL #10912 (11:70.1-80.9) Body weight (mature) (McClure et al. 2010) QTL #10911 (11:70.1-80.9) Body weight (weaning) (McClure et al. 2010) QTL #5361 (11:70.2-71.4) Residual feed intake (Sherman et al., 2009)

BTA	Ventana QTL (Mb)	Raza	Rasgo	%gVar <sup>1</sup>	Anotaciones PGC <sup>2</sup> (pb)	QTLs reportados <sup>3</sup>
13	2,606402 - 2,711744	ROMO	PN	0,14	LOC104973690 (13:2590285-2899069) PAK7 (13:2474406-2518379)	QTL #10937 (13:1.2-16.1) Body weight (weaning) (McClure et al. 2010)
13	19,93691 - 20,011204	ROMO	P24m	0,16	NRP1 (13:19910798-20059590)	no existen QTL reportados
13	22,062178 - 22,206126	ROMO	P16m	0,15	PLXDC2 (13:21594892-22015914) NEBL (13:22376850-22616712)	no existen QTL reportados
13	28,095457 - 28,183389	ROMO	P16m	0,17		QTL #20952 (13: 27.0-29.1) Average daily gain (Rolf et al., 2012)
13	28,095457 - 28,183389	ROMO	P24m	0,27	OPTN (13:28078671-28118919) MCM10 (13:28132528-28170527) UCMA (13:28176261-28183541) LOC100300115 (13:28204341-28226830)	QTL #20916 (13:27.0-29.1) Body energy content (Tetens et al., 2013) QTL #10944 (13:22.5-33.0) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010) QTL #5287 (13:24.3-53.2) Feed conversion ratio (Sherman et al., 2009) QTL #15734 (13:28.1-40.8) Body weight (slaughter) (Imumorin et al., 2011)
14	8,113083 - 8,241174	BON	PN	0,16	LOC104973982 (14:8178602-8180486) ZFAT (14:8144774-8305775) TG (14:9253697-9263933)	QTL #10954 (14:1.5-9.1) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010) QTL #10962 (14:9.1-21.9) Height (mature) (McClure et al., 2010)
14	11,736525 - 11,84887	BON	P16m	0,16	FAM49B (14:11761798-11871731) GSDMC (14:11892026-11907689)	QTL #5375 (14:3.7-43.1) Body weight (birth) (Maltecca et al., 2008) QTL #1734 (14:4.1-13.0) Average daily gain (Mizoshita et al., 2004) QTL #1731 (14:8.2-13.0) Body weight (mean) (Mizoshita et al., 2004) QTL #2627 (14:5.3-13.0) Body weight (birth) (Kneeland et al., 2004) QTL #6264 (14:11.6-11.8) Height (200 days) (Morris et al., 2009)
14	19,38069 - 19,488209	BON	PN	0,24	LOC100139328 (14:19205951-19382907) LOC522769 (14:19508569-19513438)	QTL #2630 (14:13.0-19.7) Pre weaning Average daily gain (Kneeland et al., 2004) QTL #6265 (14:19.3-19.5) Height (400 days) (Morris et al., 2009)

<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>Raza</b>	<b>Rasgo</b>	<b>%gVar<sup>1</sup></b>	<b>Anotaciones PGC<sup>2</sup> (pb)</b>	<b>QTLs reportados<sup>3</sup></b>
14	21,343649 - 21,452744	BON	PN	0,16	PRKDC (14:21037822-21164500)	QTL #2628 (14:19.7-25.1) Body weight (birth) (Kneeland et al., 2004)
14	21,65518 - 21,870878	BON	PN	0,22	MCM4 (14:21164877-21192689) UBE2V2 (14:21225303-21245523) LOC101905779 (14:21391781-21409698) EFCAB1 (14:21441225-21464737) LOC101905827 (14:21464850-21475776) SNAI2 (14:21577308-21580910)	QTL #2631 (14:19.7-25.1) Pre weaning Average daily gain (Kneeland et al., 2004) QTL #2635 (14:19.7-25.1 Mbp) Post weaning Average daily gain (Kneeland et al., 2004) QTL #24543 (14:21.2-22.1) Body weight (birth) (Saatchi et al., 2014) QTL #24798 (14:21.2-22.1) Body weight (yearling) (Saatchi et al., 2014)
14	23,817572 - 23,946436	BON	PN	0,15	SOX17 (14:23881494-23887025) LYPLA1 (14:23651465.-23668947)	QTL #24545 (14:24.1-24.8) Body weight (birth) (Saatchi et al., 2014) QTL #24731 (14:24.1-24.8) Body weight (weaning) (Saatchi et al., 2014)
14	24,524205 - 24,643266	ROMO	P16m	0,52	XKR4 (14:24295405-24614310)	QTL #24799 (14:24.1-24.8) Body weight (yearling) (Saatchi et al., 2014)
14	24,524205 - 24,643266	ROMO	P24m	0,25	TRNAT (14:24561398-24561471) TMEM68 (14:24711325-24747157)	QTL #24546 (14:25.1-26.0) Body weight (birth) (Saatchi et al., 2014)
14	24,524205 - 24,643266	ROMO	PD	0,58	TGS1 (14:24747192-24772996) PLAG1(14:25000459-25052403)	QTL #24801 (14:25.1-26.0) Body weight (yearling) (Saatchi et al., 2014)
14	26,450034 - 26,542736	BON	PN	0,18	NSMAF (14:26447717-26514219) TOX (14:26630059-26941765) SDCBP (14:26412734-26447196) CYP7A1 (14:26348324-26358692) UBXN2B (14:27635208-27719857) PLAG1(14:25000459-25052403)	QTL #24734 (14:24.7-24.7) Body weight (weaning) (Saatchi et al., 2014)
14	26,713734 - 26,836013	BON	PN	0,18		QTL #21009 (14:27.0-29.1) Average daily feed intake (Rolf et al., 2012)
14	26,874157 - 26,949215	BON	PN	0,26		QTL #20953 (14:27.0-29.1) Average daily gain (Rolf et al., 2012)
14	27,2312 - 27,321716	BON	P16m	0,17		QTL #21071 (14:27.0-29.1) Residual feed intake (Rolf et al., 2012)
14	27,2312 - 27,321716	BON	PD	0,22		QTL #10967 (14:25.1-29.3) Body weight (yearling) (McClure et al., 2010)
14	27,2312 - 27,321716	BON	PN	0,36		QTL #2632 (14:25.1-29.3) Pre weaning Average daily gain (Kneeland et al., 2004)
14	43,899216 - 44,029634	BON	PN	0,20		PKIA (14:43880469-43978275) ZC2HC1A (14:44029112-44090793) IL7 (14:44095419-44187924)

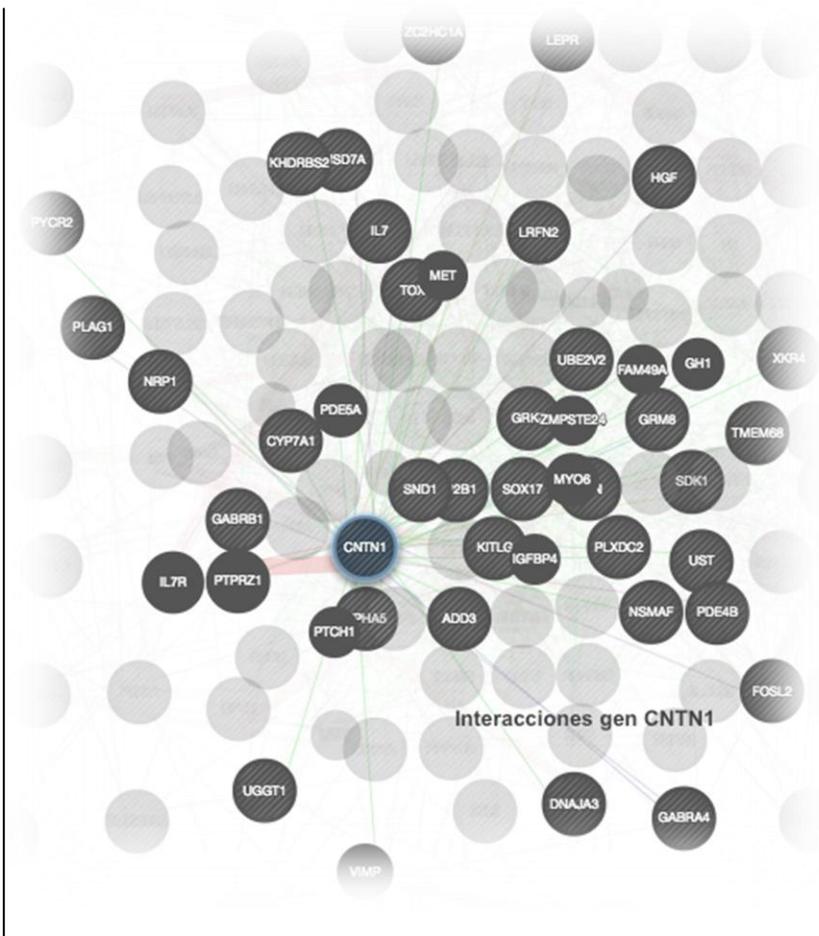
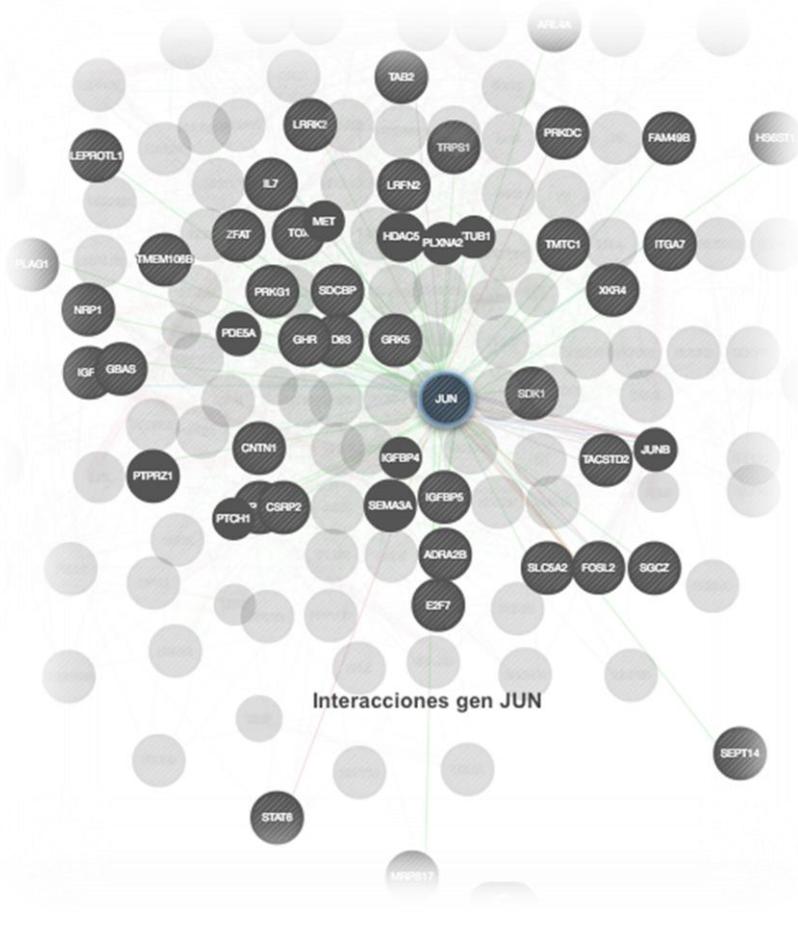
BTA	Ventana QTL (Mb)	Raza	Rasgo	%gVar <sup>1</sup>	Anotaciones PGC <sup>2</sup> (pb)	QTLs reportados <sup>3</sup>
14	50,976308 - 51,045612	BON	P16m	0,13	TRPS1 (14:50840998-51070254)	QTL #18851 (14:46.2-53.0) Milk fat yield (Marques et al., 2011) QTL #18874 (46.2-53.0) Milk protein yield (Marques et al., 2011) QTL #18882 (14:46.2-53.0) Milk yield (EBV) (Marques et al., 2011)
15	10,517607 - 10,700852	ROMO	PD	0,15	No existen anotaciones de genes	QTL #5290 (15:1.4-17.2) Feed conversion ratio (Sherman et al., 2009) QTL #10983 (15:4.2-10.8) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010) QTL #10986 (15:5.7-14.7) Body weight (birth) (McClure et al., 2010) QTL #10989 (15:5.7-14.7) Body weight (yearling) (McClure et al., 2010)
16	20,056325 - 20,122425	BON	P24m	0,26	USH2A (16:19573856-20503308)	QTL #11025 (16:19.4-40.0) Body weight (birth) (McClure et al., 2010)
16	29,60049 - 29,689166	ROMO	P24m	0,14	EPHX1 (16:29585591-29624039) TMEM63A (16:29624560-29660648) LEFTY2 (16:29663583-29666431) PYCR2 (16:29695733-29699696)	QTL #11025 (16:19.4-40.0) Body weight (birth) (McClure et al., 2010) QTL #11026 (16:22.5-40.0) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010) QTL #7101 (16:22.5-46.7) Average daily gain (Gutierrez-Gil et al., 2009) QTL #4482 (16:22.5-46.7) Body weight (weaning) (Alexander et al., 2007) QTL #4486 (16:22.5-46.7) Pre-weaning average daily gain (Alexander et al., 2007)
19	14,923593 - 15,0601	ROMO	P16m	0,20	MMP28 (19:14904889-14930774) GAS2L2 (19:14939572-14946571) RASL10B (19:14950018-14956393)	QTL #11075 (19:7.7-21.6) Body weight (mature) (McClure et al., 2010)
19	15,000767 - 15,10727	ROMO	P24m	0,24	AP2B1 (19:14993747-15076200) PEX12 (19:15081828-15086493) SLFN14 (19:15098771-15108067)	QTL #11076 (19:7.7-21.6) Body weight (yearling) (McClure et al., 2010)
20	34,314015 - 34,387298	BON	P16m	0,19	LOC104975271 (20:34182729-34225452) LOC104975272 (20:34386222-34392913) LOC782462 (20:34415201-34427076) GHR (20:31890736-32064204)	QTL #5106 (20:34.3-34.5) Dry matter intake (Sherman et al., 2008) QTL #5105 (20:34.3-34.5) Feed conversion ratio (Sherman et al., 2008) QTL #5104 (20:34.3-34.5) Residual feed intake (Sherman et al., 2008) QTL #11112 (20:29.9-35.3) Body weight (mature) (McClure et al., 2010)

<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>Raza</b>	<b>Rasgo</b>	<b>%gVar<sup>1</sup></b>	<b>Anotaciones PGC<sup>2</sup> (pb)</b>	<b>QTLs reportados<sup>3</sup></b>
20	44,452488 - 44,5463	BON	P24m	0,24	sin anotaciones de genes	no existen QTL reportados
23	0,402797 - 0,764842	BON	P16m	0,42	KHDRBS2 (SLM1) (23:0,183903-0,864545)	QTL #1632 (23:0.6-3.8) Body form composite index (Ashwell et al., 2005)
23	0,402797 - 0,764842	BON	PD	0,22		QTL #1637 (23:0.6-6.7) Stature (Ashwell et al., 2005)
23	0,402797 - 0,764842	ROMO	P16m	0,24		QTL #1631 (23:0.6-3.8) Body depth (Ashwell et al., 2005)
23	0,402797 - 0,764842	ROMO	P24m	0,21		QTL #1412 (0.6-17.5) Body weight (slaughter) (Elo et al., 1999)
23	0,402797 - 0,764842	ROMO	PD	0,15		
23	14,170863 - 14,246801	ROMO	P16m	0,15	LOC104969558 (23:14101326-14104536)	QTL #1412 (23:0.6-17.5) Body weight (slaughter) (Elo et al., 1999)
23	14,170863 - 14,246801	ROMO	P24m	0,17	LOC104969567(23:14185498-14200176)	QTL #11164 (23:5.9-16.3) Body weight (mature) (McClure et al., 2010)
					LOC104969575(23:14290524-14293608)	QTL #11169 (23:7.2-21.1) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010)
					LOC100847495(23:14293888-14295434)	QTL #11166 (23:7.2-21.1) Body weight (yearling) (McClure et al., 2010)
					LRFN2 (23:14308806-14511087)	QTL #2646 (23:12.0-16.8) Average daily gain (Kneeland et al., 2004)
25	3,624364 - 3,696387	BON	P24m	0,16	NMRAL1 (25:3603654-3609863)	QTL #11201 (23:3.7-13.8) Body weight (birth) (McClure et al., 2010)
					DNAJA3 (25:3569954-3601282)	QTL #15737 (23:3.7-13.8) Body weight (slaughter) (Imumorin 2011)
					HMOX2 (25:3621447-3649597)	QTL #1307 (23:3.7-13.8) Body weight (yearling) (Kim et al., 2003)
					CDIP1 (25:3649859-3674235)	
					MGRN1 (25:3754919-3791614)	
25	27,847889 - 27,947783	BON	P16m	0,13	LOC783313 (25:27811909-27812877)	QTL #20975 (25:27.0-29.1) Average daily gain (Rolf et al., 2012)
					OR7D4 (25:27837041-27837979)	QTL #21094 (25:27.0-29.1) Residual feed intake (Rolf et al., 2012)
					SEPT14 (25:27838489-27873281)	QTL #11213 (25:27.5-35.3) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010)
					ZNF713 (25:27875669-27895363)	QTL #11216 (25:27.5-39.6) Height (mature) (McClure et al., 2010)
					MRPS17 (25:27911030-27915297)	
					GBAS (25:27919682-27946567)	
					PHKG1 (25:28005384-28014212)	
					SLC5A2 (25:27771606-27781373)	
25	40,406561 - 40,553104	BON	PD	0,17	SDK1 (25:40003833-40743224)	no existen QTL reportados

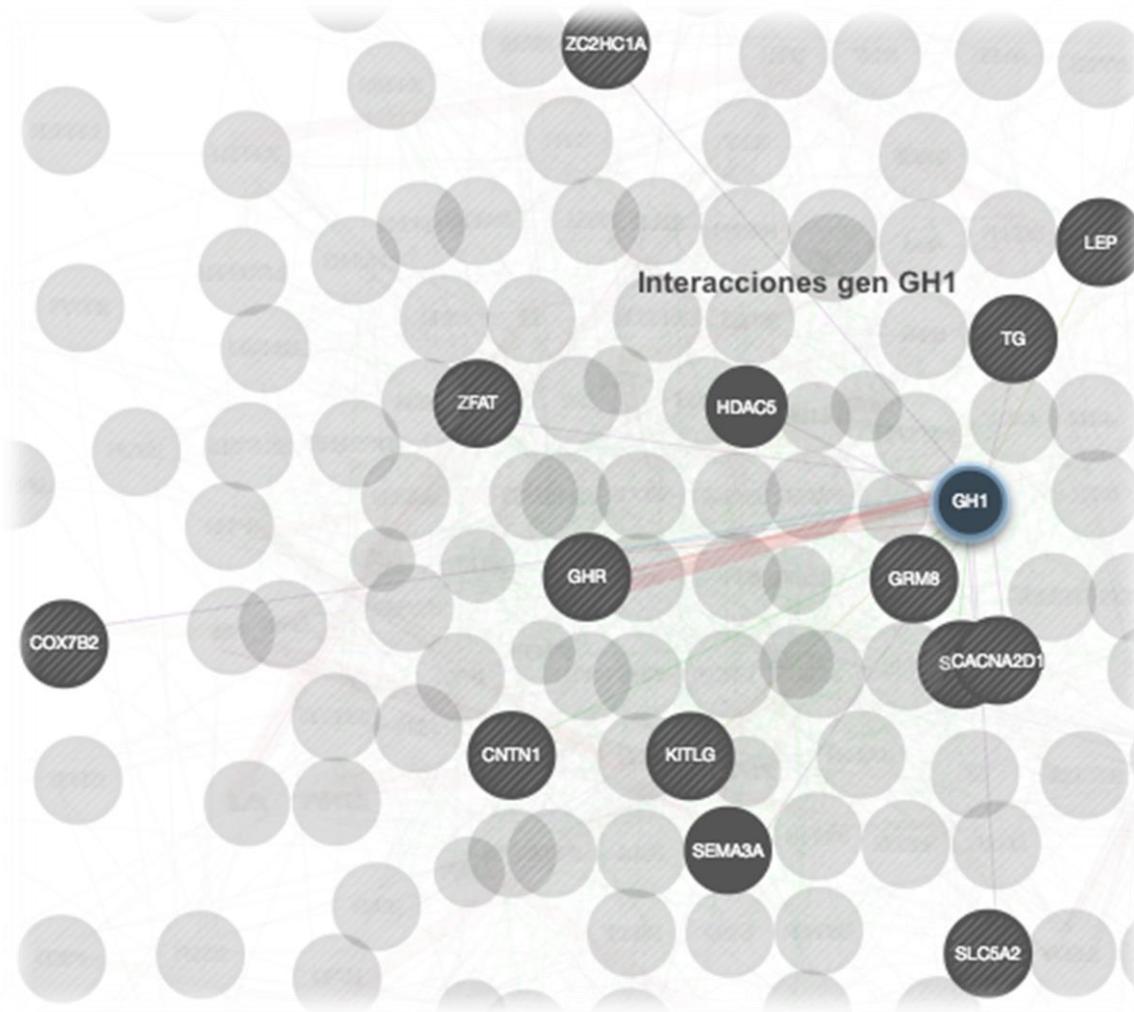
<b>BTA</b>	<b>Ventana QTL (Mb)</b>	<b>Raza</b>	<b>Rasgo</b>	<b>%gVar<sup>1</sup></b>	<b>Anotaciones PGC<sup>2</sup> (pb)</b>	<b>QTLs reportados<sup>3</sup></b>
26	8,22127 - 8,356096	ROMO	PN	0,15	PRKG1 (26:6901760-8343635) A1CF (26:8486015-8586990)	QTL #10551 (26:5.5-18.7) Body weight (mean) (Hanotte et al., 2003) QTL #11228 (26:5.5-23.0) Height (mature) (McClure et al., 2010) QTL #11226 (26:5.5-11.8) Height (yearling) (McClure et al., 2010)
26	30,508089 - 30,607485	BON	PN	0,14	LOC104970543 (26:30011383-30335759) XPNPEP1 (26:30690130-30742379) ADD3 (26:30839926-30972846)	QTL #5314 (26:25.4-39.2) Residual feed intake (Sherman et al., 2009) QTL #11237 (26:25.9-31.0) Body weight (weaning) (McClure et al., 2010) QTL #11239 (26:25.9-31.0) Height (mature) (McClure et al., 2010)
26	39,90218 - 39,986299	BON	P24m	0,14	GRK5 (26:39702494-39930996) RGS10 (26:39976215-40017296) TIAL1 (26:40038819-40061116)	no existen QTL reportados
27	21,467632 - 21,577683	BON	P24m	0,16	SGCZ (27:20912916-22042147) LEPROTL1 (27:25422489-25432349)	no existen QTL reportados

<sup>1</sup>Varianza genética explicada por cada ventana de 4 SNP contiguos. <sup>2</sup>Posible gen candidato posicional y funcional con anotación dentro o cerca de las regiones de interés. <sup>3</sup>QTLs asociados con características de crecimiento, reportados previamente en las regiones circundantes a los SNPs significativos identificados en este estudio, de acuerdo con la base de datos AnimalQTLdb (2016).

## B. Anexo: interacciones entre genes dentro de la red de genes generada usando GeneMANIA







Interacciones gen GH1

# C. Anexo: redes de genes funcionales que se destacaron dentro de la red general

