

ESTUDIO DE FRECUENCIAS EN MARCADORES DE TERNEZA EN BOVINOS CRIOLLOS ARGENTINOS

MARKERS OF TENDERNESS IN ARGENTINE CREOLE CATTLE

Estevez D.¹, Holgado F.², Tessi J.³, Fernández E.¹, Género E.¹, Martínez R.^{1*}

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Argentina. martinezruda@yahoo.com.ar.

²Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, Leales, provincia de Tucumán, Argentina.

³INTA EEA La Rioja, provincia de La Rioja, Argentina.

Keywords: Calpain; Calpastatin; Genetic diversity.

Palabras Clave: Calpaina; Calpastatina; Diversidad genética.

ABSTRACT

The Argentine Creole cattle was adapted to produce in all environments that exist in our country. Among the attributes that contribute to the quality of beef tenderness is the most valued by consumers, which is one of the objectives of cattle breeding selection. The difficulty is that it is a non-quantifiable character with the living animal. Fortunately, the molecular information allows the selection of the cattle breeding without phenotypic information. Calpain and Calpastatin are two enzymes that are involved in the degradation of post-mortem muscle fiber proteins. They have been identified in the genes that determine the information for these two enzymes, genetic variants associated with greater or less tenderness. Genotyped 154 cattle of Creole breed belonging to four populations: La Rioja (n = 41); Leales (n = 37); Cruz de Guerra (n = 40) and Patagonico (n = 36) for the loci CAPN1 316, CAPN1 530 and CAST 2959. The average gene frequencies in the creole breed were: CAPN1 316 = C: 0.506; G: 0.494, for CAPN1 530 = G: 0.441; A: 0.599 and for CAST 2959 = A: 0.489; G: 0.511. The most frequent combined genotype was: CGGAAG (n = 32), heterozygous at the three *loci*, with three favorable alleles and three unfavorable alleles for tenderness. The most genetically distant populations for the three *loci* were LR and LE and the closest CG and PA. The results indicate that the Creole bovine breed has genetic characteristics that favor tenderness of the meat.

RESUMEN

La raza bovina criolla argentina se adaptó a producir en todos los ambientes que existen en nuestro país. Entre los atributos que contribuyen a la calidad de la carne bovina, la ternera es el más valorado por los consumidores, por lo cual constituye uno de los objetivos de selección de reproductores. La dificultad es que se trata de un carácter no cuantificable con el animal vivo. Afortunadamente, la información molecular permite la selección de los reproductores sin contar con información fenotípica. La Calpaína y la Calpastatina son dos enzimas que participan en la degradación de las proteínas de la fibra muscular post-mortem. Se han identificado en los genes que determinan la información para estas dos enzimas, variantes genéticas asociadas a mayor o menor ternera. Se genotiparon 154 bovinos de raza criolla pertenecientes a cuatro poblaciones: La Rioja (n=41); Leales (n=37); Cruz de Guerra (n=40) y Patagónico (n=36) para los *loci* CAPN1 316, CAPN1 530 y CAST 2959. Las frecuencias génicas promedio en la raza criolla fueron: CAPN1 316 = C: 0,506; G: 0,494, para CAPN1 530 = G: 0,441; A: 0,599 y para CAST 2959 = A: 0,489; G: 0,511. El genotipo combinado más frecuente fue: CGGAAG (n=32), heterocigota en los tres locus, con tres alelos favorables y tres desfavorables para ternera. Las poblaciones más distantes genéticamente para los tres *loci* resultaron LR y LE y las más cercanas CG y PA. Los resultados indican que la raza bovina criolla presenta características genéticas que favorecen la ternera de la carne.

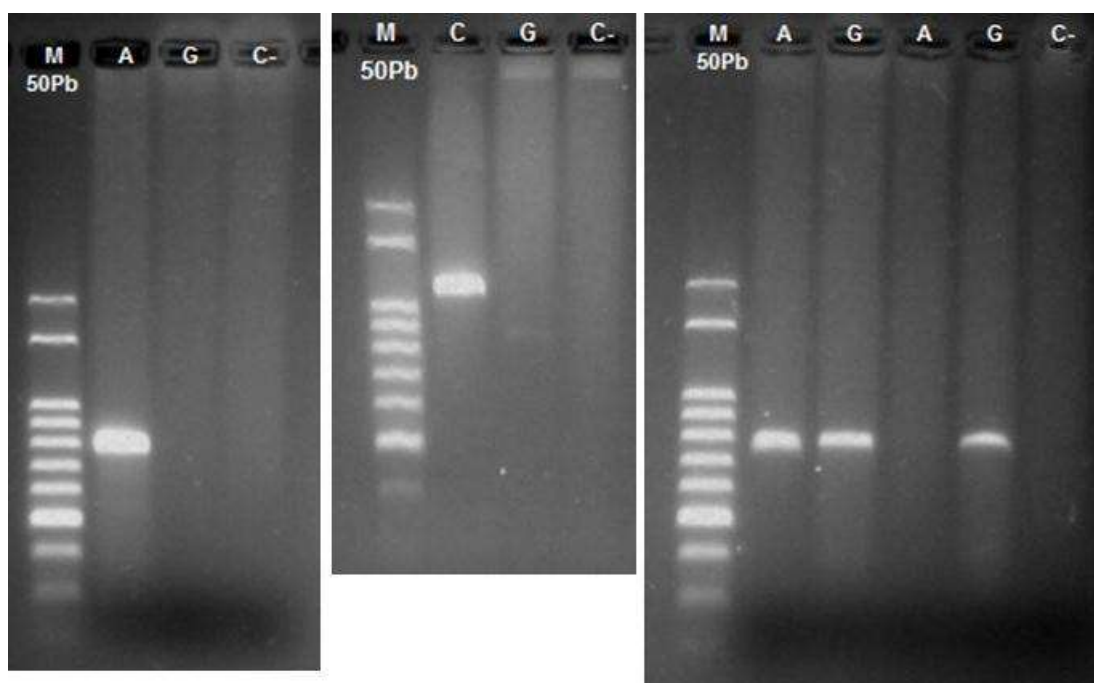
INTRODUCCIÓN

La raza bovina criolla es la fundadora de la ganadería argentina. Los primeros bovinos ingresados a nuestro país fueron introducidos por los colonizadores españoles a partir de 1549 (Montoya, 1984). En ese momento se inició la formación la raza bovina criolla argentina como raza local, adaptándose a los más diversos ambientes (Sal Paz, 1986), siendo protagonista de un proceso de selección natural de aproximadamente quinientos años (Rabasa *et al.*, 2005) y poca o nula selección artificial. Su aporte al desarrollo económico, social y cultural de las distintas regiones agroecológicas del país ha sido y es actualmente muy importante. La Asociación de Criadores se formalizó recién en 1985 (Rabasa *et al.*, 2005) e ingresó en los registros de la Sociedad Rural Argentina en el año 1989. Sus características genéticas y productivas no son suficientemente reconocidas y valoradas en el ámbito académico y comercial, por lo cual está siendo desaprovechada como recurso zoogenético para el mejoramiento de la productividad de nuestro rodeo nacional, cuyo porcentaje de destete promedio es de 63 % (Canosa, 2018). Los bovinos criollos están distribuidos en todas las provincias argentinas, constituyendo una base genética amplia y diversa, que está disponible para hacer su aporte a la mejora de la productividad ganadera nacional. Entre todos los atributos que contribuyen a la calidad de la carne bovina, se ha comprobado que la ternera es el más apreciado por los consumidores (Teira, 2004). Esta valoración de la ternera le otorga a este atributo una gran importancia como objetivo de selección de reproductores en los rodeos bovinos (Guitou & Herrmann, 2010). La dificultad que conlleva la selección para mayor ternera es que se trata de un carácter no cuantificable con el animal vivo, por lo cual su determinación debe hacerse luego de su faena. Esta particularidad dificulta la evaluación genética de los futuros reproductores. Sin embargo, la información molecular permite realizar la selección genotípica prescindiendo de información fenotípica del animal evaluado y esto es particularmente importante para características que se expresan en un solo sexo, lo hacen tardíamente o son difíciles y costosas de medir (Motter *et al.*, 2009). Entre las razones que explican los cambios asociados a la ternera de la carne, se ha determinado como principal responsable al sistema proteolítico de las enzimas Calpaínas (CAPN1) y Calpastatinas (CAST), el cual actúa en la degradación post-mortem de las proteínas estructurales del músculo (Parra-Bracamonte *et al.*, 2009), siendo la Calpastatina una enzima que interviene en la regulación de la actividad de las Calpaínas mediante la inhibición de su efecto (White *et al.*, 2005). Se han identificado en los genes que determinan la información para estas dos enzimas, variantes genéticas asociadas a mayor o menor ternera (Page *et al.*, 2002; 2004; White *et al.*, 2005). En virtud de ello, se han realizado muchos trabajos en diversas razas y cruza a efectos de determinar las frecuencias de dichos marcadores (Cuetia *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2015; Sena *et al.*, 2017), e incluso se incluyen los genotipos para esos marcadores de los reproductores que participan en las evaluaciones genéticas realizadas por algunas asociaciones de criadores (Guitou & Herrmann, 2010). Sobre la raza Bovina Criolla Argentina, aún no se han realizado trabajos tendientes a determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los marcadores moleculares relacionados con la ternera de la carne. El objetivo del trabajo fue realizar un aporte al conocimiento de las frecuencias de las variantes genéticas de Calpaína (CAPN1) y Calpastatina (CAST) en cuatro poblaciones de bovinos criollos argentinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de sangre de bovinos Criollos pertenecientes al INTA Leales Tucumán (LE) (n=50), al INTA Chamental La Rioja (LR) (n=50), a la Estancia Cruz de Guerra situada en 25 de Mayo, provincia de Buenos Aires (CG) (n=50) y a la FCA UNLZ de origen patagónico, ubicados en Chascomus provincia de Buenos Aires (PA) (n=50). Estas muestras fueron llevadas al laboratorio de Biotecnología de la FCA UNLZ, donde se procedió a la extracción de ADN utilizando un Kit comercial (ADN Purification Kit de Promega). La cuantificación del material extraído se realizó mediante el Fluorómetro Qubit 2.0 de Invitrogen. Cada una de estas muestras de DNA con concentración de 50 a 100ng fue sometida a una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) alelo específico (AS PCR), utilizando partidores sintetizados para los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs): CAPN1 316 (variante C=favorable y G=desfavorable); CAPN1 530 (variante G=favorable y A=desfavorable) (Page *et al.* 2004) y CAST 2959 (variante A=favorable y G=desfavorable) (Casas *et al.* 2006). Para la amplificación del ADN extraído se siguió el protocolo descrito por Serrano Caneleo (2009), con modificaciones. En tubos de centrífuga de 0.2 ml se creó una Mix compuesta de: 1.25 µl

de solución tampón de reacción PCR 10X, 0.3 μ l de dNTPs 10 mM, 1 μ l de primers (0.5 μ l primer forward y 0.5 μ l primer reverse), 0.3 μ l de Cloruro de Magnesio, 0.1 μ l de Taq polimerasa y 1 μ l de material genético. Se agregó a la mezcla H₂O libre de nucleasas hasta completar un volumen de 13 μ l en cada tubo. La reacción de PCR sometió a los tubos a una desnaturalización inicial de 3 minutos a 94° C, seguido de 35 ciclos de desnaturalización, 30 segundos a 94°C, alineamiento de los primers, 30 segundos a 56°C (CAST 2959), 61°C (CAPN1 316) y 62°C (CAPN1 530) con una elongación de 30 segundos a 72°C. Finalizando el proceso con una elongación final de 10 minutos a 72°C. Para la visualización de los resultados se utilizaron corridas electroforéticas con geles de agarosa al 2%, obteniéndose así los genotipos de los animales para cada uno de los marcadores (Figura 1). Se obtuvieron los genotipos para 40 animales de CG, para 37 animales de LE, para 41 animales de LR y para 36 animales de origen patagónico PA. Se estimaron las frecuencias alélicas y genotípicas para los tres SNPs en las cuatro poblaciones, se calcularon las frecuencias de los genotipos combinados para los tres SNPs, se estimaron parámetros de diversidad genética para las cuatro poblaciones, se realizó un análisis factorial de correspondencias múltiples para detectar agrupamientos por similitud genotípica y se calcularon las distancias genéticas de Nei (1978) y la distancia Mínima de Nei, como test confirmatorio, utilizando el programa informático Genetix 4.05 (Belkhir *et al.*, 1996-2004).



A: muestra 34 de CG (homocigota AA) amplificada con primer CAPN530. **B:** muestra 15 de LE (homocigota CC) amplificada con primer CAPN316. **C:** muestra 892 de PA (heterocigota AG) y muestra 2546 de LR (homocigota GG) con primer CAST 2959.

Figura 1. Corridas electroforéticas para los tres marcadores (*Electrophoretic runs for the three markers*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias genotípicas registradas en la muestra total de 154 bovinos criollos argentinos para los tres SNPs fueron para CAPN1 316 = CC: 0,253; CG: 0,506; GG: 0,242, para CAPN1 530 = GG: 0,120; GA: 0,515; AA: 0,363 y para CAST 2959 = AA: 0,095; AG: 0,789; GG: 0,117, mientras que las frecuencias alélicas para los mismos marcadores fueron: CAPN1 316 = C: 0,506; G: 0,494, para CAPN1 530 = G: 0,441; A: 0,559 y para CAST 2959 = A: 0,489; G: 0,511. Sólo en este último marcador se observó desequilibrio Hardy Weinberg, con exceso de heterocigotas. Comparando estos resultados con bovinos criollos de otros países, observamos que en CAPN1 316, supera en la frecuencia del alelo favorable a tres poblaciones de Criollos Bolivianos: Chaqueño: C = 0,23; Yacumeño: C = 0,22 y al Saavedreño: C = 0,33 (Pereira *et al.*, 2015). También supera al valor registrado en diez razas bovinas criollas colombianas: C = 0,21 (Cuetia *et al.*, 2012) y al Criollo Limonero de Venezuela: C = 0,08 (Torres-Rodríguez *et al.* 2015). Sin embargo, en CAPN1 530 y en CAST 2959, el Criollo Colombiano resulta con frecuencias mayores para el alelo favorable a mayor ternera: G = 0,64 y A =

0,66 respectivamente (Cuetia *et al.*, 2012). La raza Aberdeen Angus de Argentina presentó las siguientes frecuencias para los alelos de CAPN1 316: C = 0,292 y para CAST 2959: A=0,916, favorables a la terneza de la carne (Guitou *et al.*, 2011). Según los valores observados, cabe suponer que en promedio los animales de cruce Aberdeen Angus por Criollo Argentino o su recíproco, van a presentar genotipos más favorables a la terneza de la carne, que las dos razas paternas, ya que ambas presentan frecuencias de alelos favorables complementarias. Es decir, la raza Criolla Argentina presenta mayor frecuencia alélica para la variante favorable tiernizante CAPN1 530: C=0,506 y la Aberdeen Angus mayor frecuencia alélica para la variante favorable “no inhibidora” CAST 2959: A=0,916, por lo cual la cruce entre ambas razas equilibrará las frecuencias genotípicas en la progenie, obteniéndose individuos con mayor cantidad de variantes favorables a la terneza de la carne que en las dos razas puras. En la tabla I se observan las frecuencias genotípicas para los tres marcadores estudiados en las cuatro poblaciones de bovinos criollos. En general se registró una alta proporción de individuos heterocigotos para los tres marcadores en las cuatro poblaciones, aunque se destaca por esta particularidad el CAST 2959.

Tabla I. Frecuencias genotípicas para los tres SNPs, en las cuatro poblaciones de bovinos criollos (*Genotypic frequencies for the three SNPs, in the four populations of Creole cattle*).

	Frecuencias Genotípicas								
	CAPN1 316			CAPN1 530			CAST 2959		
	CC	CG	GG	GG	GA	AA	AA	AG	GG
LR	0,390	0,536	0,074	0,103	0,538	0,359	0,050	0,830	0,120
CG	0,230	0,642	0,128	0,154	0,564	0,282	0,000	0,846	0,154
LE	0,057	0,457	0,486	0,082	0,513	0,405	0,190	0,756	0,054
PA	0,333	0,389	0,278	0,139	0,444	0,417	0,139	0,722	0,139

LR = La Rioja; CG = Cruz de Guerra; LE = Leales; PA = Patagónico.

Tabla II. Genotipos combinados más frecuentes en el total de los individuos y su incidencia en cada población estudiada (*Combined genotypes more frequent in the total of individuals and their incidence in each population studied*).

Genotipos combinados CAPN1 316/530/CAST 2959	Total	LR	CG	LE	PA
CGGAAG	32	7	15	5	5
CGAAAG	18	8	2	7	1
CCAAAG	17	4	9	1	3
GGAAAG	12	0	0	7	5
GGGAAG	12	2	2	6	2

LR = La Rioja; CG = Cruz de Guerra; LE = Leales; PA = Patagónico.

En la tabla II se muestran los genotipos combinados más frecuentes considerando todos los individuos muestreados y su incidencia en cada una de las poblaciones estudiadas, observándose una clara disparidad entre las cuatro poblaciones. En los 154 animales estudiados se registraron en total 29 genotipos diferentes considerando la combinación de los tres marcadores: CAPN1 316; CAPN1 530 y CAST 2959. El genotipo combinado más frecuente fue el CGGAAG (n=32), heterocigota en los tres *locus* y por lo tanto con tres alelos favorables y tres desfavorables para terneza. Los animales de LE presentaron 13 genotipos diferentes, siendo los más frecuentes CGAAAG (n=7) y GGAAAG (n=7) con dos y un alelo favorable respectivamente. Los de LR, 16 genotipos diferentes, siendo los más frecuentes CGAAAG (n=8) y CGGAAG (n=7) con dos y tres alelos favorables respectivamente. Los de CG presentaron 13 genotipos diferentes, siendo los más frecuentes CGGAAG (n=15) y CCAAAG (n=9), ambos con tres alelos favorables. Los PA presentaron 17 genotipos diferentes, siendo los más frecuentes CCGAAG (n=5), CGGAAG (n=5) y GGAAAG (n=5), con cuatro, tres y uno alelos favorables respectivamente. En la tabla III se muestran las frecuencias génicas para los tres marcadores en las cuatro poblaciones, donde puede observarse que los criollos de LE presentan las frecuencias

más bajas para los alelos favorables a terneza en los marcadores CAPN1 316 (C= 0,286) y CAPN1 530 (G = 0,338), en contraposición los criollos de LR presentaron las frecuencias más altas para esos alelos: CAPN1 316: C = 0,659 y CAPN1 530: G = 0,628. En cuanto al marcador CAST 2959, la mayor frecuencia para el alelo favorable la presentaron los criollos de LE (A= 0,568) y la menor los criollos de CG (A=0,423).

Tabla III. Frecuencias alélicas para los tres SNPs, en las cuatro poblaciones de bovinos criollos (*Allelic frequencies for the three SNPs, in the four populations of Creole cattle*).

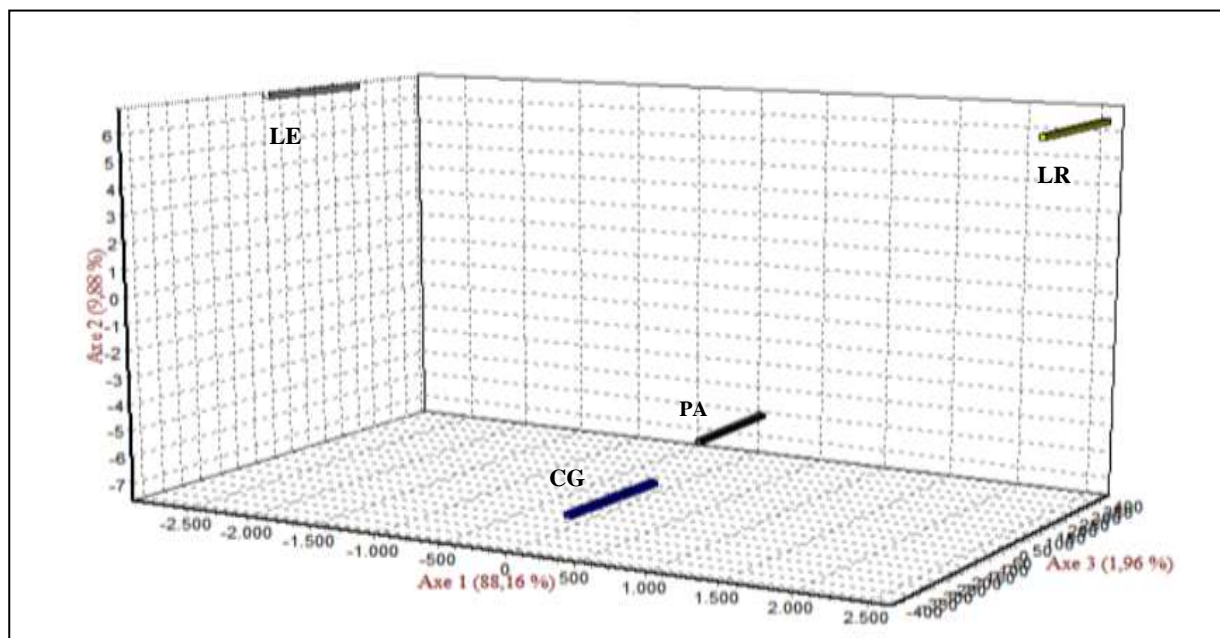
	Frecuencias Alélicas					
	CAPN1 316		CAPN1 530		CAST 2959	
	C	G	G	A	A	G
LR	0,659	0,342	0,628	0,372	0,463	0,537
CG	0,551	0,449	0,436	0,564	0,423	0,577
LE	0,286	0,714	0,338	0,662	0,568	0,432
PA	0,528	0,472	0,361	0,639	0,500	0,500

LR = La Rioja; CG = Cruz de Guerra; LE = Leales; PA = Patagónico.

Tabla IV. Parámetros de diversidad genética en las cuatro poblaciones (*Parameters of genetic diversity in the four populations*).

Locus	LE			LR			CG			PA		
	Ho	He	Fis	Ho	He	Fis	Ho	He	Fis	Ho	He	Fis
CAPN1 316	0,457	0,408	-0,106	0,536	0,449	-0,181	0,641	0,494	-0,284	0,389	0,498	0,233
CAPN1 530	0,513	0,447	-0,134	0,538	0,467	-0,140	0,564	0,491	-0,134	0,444	0,461	0,051
CAST 2959	0,756	0,490	-0,532	0,829	0,497	-0,661	0,846	0,488	-0,727	0,722	0,500	-0,433

LE= Leales; LR=La Rioja; CG=Cruz de Guerra; PA=Patagónico. Ho= Heterocigosidad Observada; He= Heterocigosidad Esperada; Fis = Mide déficit o exceso de heterocigosis en cada población.



LE=Leales; LR= La Rioja; CG= Cruz de Guerra; PA= Patagónico.

Figura 2. Representación gráfica del Análisis factorial de correspondencias múltiples. (*Graphical representation of the factorial analysis of multiple correspondences*).

En la tabla IV se muestran parámetros que estiman la diversidad genética para cada marcador en cada población: la heterocigosis observada (H_o), la heterocigosis esperada (H_e) y los valores Fis que indican el exceso (cuando el valor es negativo) o el déficit (cuando el valor es positivo) de heterocigosis en cada población. Todas las poblaciones mostraron exceso de heterocigosis para el marcador CAST 2959, siendo CG el mayor ($Fis = -0,727$) y PA el menor ($Fis = -0,433$). Para los marcadores CAPN1 316 y CAPN1 530 también se observó exceso de heterocigosis, aunque no tan marcado como en CAST 2959, la excepción para estos dos marcadores se manifestó en la población PA donde se registró déficit de heterocigosis para CAPN1 316 ($Fis = 0,233$) y en el equilibrio para CAPN1 530 ($Fis = 0,051$). Con la intención de agrupar los individuos analizados según su semejanza genética se realizó un análisis factorial de correspondencias múltiples (AFCM), utilizando como variable clasificatoria los genotipos individuales para los tres SNPs, de los 154 animales genotipados. El primer eje factorial explicó el 88,16 % de la variación total y el segundo eje un 10 %. En la Figura 2 se observa la representación gráfica de los centros de gravedad generados por el conjunto de individuos de las cuatro poblaciones. El primer eje factorial diferencia claramente las poblaciones de LE y LR ubicándolas en sectores opuestos, mientras que a las poblaciones de CG y PA las coloca en el mismo sector. El segundo eje factorial divide por un lado a LE y LR y por otro a CG y PA.

Tabla V. Distancia de Nei (1978) entre las cuatro poblaciones (*Distance of Nei (1978) between the four jpopulations*).

	LR	CG	LE	PA
LR	--	0.021	0.145	0.047
CG		--	0.053	0.005
LE			--	0.028
PA				--

LR= La Rioja; CG = Cruz de Guerra; LE = Leales; PA = Patagónico.

Tabla VI. Distancia Mínima de Nei entre las cuatro poblaciones (*Minimum distance of Nei between the four populations*).

	LR	CG	LE	PA
LR	--	0.017	0.078	0.030
CG		--	0.034	0.004
LE			--	0.021
PA				--

LR= La Rioja; CG = Cruz de Guerra; LE = Leales; PA = Patagónico.

Para verificar estos resultados se estimaron las distancias genéticas entre las poblaciones (Tablas V y VI), donde puede apreciarse que las poblaciones con mayor distancia entre sí son LE y LR y las más cercanas entre sí son CG y PA, de tal manera que se confirma el resultado del análisis factorial de correspondencias.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que la raza bovina criolla argentina presenta altas frecuencias para las variantes genéticas asociadas a la mayor ternera de la carne, independientemente de su adaptación a los distintos ambientes. Además, resulta interesante la complementariedad de las frecuencias génicas favorables observadas entre las razas bovinas Criolla y Aberdeen Angus de Argentina, ya que se estima que en promedio los animales cruzas tenderán a presentar genotipos más favorables a la ternera de la carne.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a toda la Comisión Directiva de la Asociación Argentina de Criadores de Ganado Bovino Criollo (AACGBC) especialmente al Sr. Martín B. Garcíarena, por su colaboración desinteresada y su disposición al trabajo en equipo.

BIBLIOGRAFÍA

- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Canosa F. 2018. Las deudas de hoy no tapan la potencia del mañana. Clarín rural 10/11/2018. Clarin.com.
- Casas E., White S.N., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Riley D.G., Chase Jr C.C., Johnson D.D. & Smith T.P.L. 2006. Effects of calpastatin and μ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J Anim Sci.* 84:520-525.
- Cuetia J. A., Posso A. M., Hernandez D. Y., Ariza M. F., Muñoz J. E. & Alvarez L. A. 2011. Polimorfismos de los genes calpaina y calpastatina en diez razas bovinas criollas mediante siete marcadores de polimorfismo de nucleótidos simple (SNPS). *AICA* 1 191-194.
- Cuetia J. A., Posso A. M., Muñoz J. E., Ariza M. F. & Alvarez L. A. 2012. Tipificación de las frecuencias de los genes calpaina, calpastatina y leptina en bovinos criollos colombianos. *Rev. AICA* 2 pág. 231-234.
- Guitou H. & Herrmann P. 2010. Marcadores Moleculares de Terneza: Calpaina y Calpastatina. *Revista Angus* Número 249 pp.73-77.
- Guitou H., Monti A., Baluk M.I., Ellinger A., Bustillo A., Fernández Alt M., Matilla S., Sáez G., Pérez Lloret J., Herrmann P. & Schijman A. 2011. Raza ANGUS. Terneza Selección Asistida por Marcadores Moleculares. Cuadernillo Técnico Nro 11. IPCVA 5-9.
- Montoya A. J. 1984. Cómo evolucionó la ganadería en la época del virreinato. Editorial Plus Ultra Buenos Aires Argentina. 388 pp.
- Motter M. M., Corva P., Krause M., Perez Cenci M. & Soria I. 2009. Rol de la Calpastatina en la variabilidad de la Terneza de la Carne Bovina. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 20 (1): 15-24.
- Page B. T., Casas E., Heaton M.P., Cullen N.G., Hyndman D. L., Morris C. A., Crawford A. M., Wheeler T. L., Koohmaraie M., Keele J. W. & Smith T. P. L. 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *J. Anim. Sci.* 80:3077–3085.
- Page B. T., Casas E., Quaas R. L., Thallman R. M., Wheeler T. L., Shackelford S. D., Koohmaraie M., White S. N., Bennett G. L., Keele J. W., Dikeman M. E. & Smith T. P. L. 2004. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J. Anim. Sci.* 82:3474–3481.
- Parra-Bracamonte G., Sifuentes-Rincón A., Arellano-Vera W., Almanza-Gonzalez A. & De La Rosa-Reyna X. 2009. Tipificación de tres marcadores genéticos de caracteres de importancia comercial en ganado Charolais: implicaciones en la ganadería para carne en México. *Rev. Col. Cien. Pec.* 22: 257-266.
- Pereira J A C., Falomir-Lockhart A H., Loza A., Villegas Castagnasso E E., Rojas P., Carino M., Ripoli M & Giobambattista G. 2015. Comparación de frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos CAPN1 316 y CAPN1 4751 del gen de la calpaina en tres poblaciones de ganado criollo boliviano. *Rev. AICA* 6 pág. 156-164.
- Pereira N.I., Soares W.V.B. & Lara M.A.C. 2015. Polimorfismos dos genes calpaina e calpastatina em bovinos. *AICA* 6 272-279.
- Rabasa A.E., Holgado F.D. & Poli M.A. 2005. Bovino Criollo de Argentina: Diferentes aspectos en su caracterización. *Agrociencia*. Vol. IX N° 2 y N° 3 pág. 473 – 477.
- Sal Paz F. 1986. El Ganado criollo argentino: definición y características principales. *Ganado Bovino Criollo Tomo I. Orientación Gráfica Editora S.R.L. Buenos Aires Argentina.* pp. XIX-XXI.
- Sena A., Hale S., Deniz D., Bahadır S., & Faruk B. 2017. Individual and combined effects of CAPN1, CAST, LEP and GHR gene polymorphisms on carcass characteristics and meat quality in Holstein bulls. *Arch. Anim. Breed.*, 60, 303–313.
- Serrano Caneleo C. M. 2009. Identificación del polimorfismo genético de los genes CAST y CAPN1 asociados a terneza de la carne en bovinos, mediante la técnica de PCR alelo específica. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Escuela de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile. 70 pp.
- Teira G. 2004. Actualidad y perspectivas de un componente principal de la calidad de carnes bovinas: la terneza. *Revista Ciencia, Docencia y Tecnología* N° 28, Año XV, pp 215-244.
- Torres-Rodríguez P. B., Aranguren-Méndez J. A., Portillo-Ríos M. G., Rojas I. M. & Chango-Oduber R. 2015. Estudio de los polimorfismos CAPN316, CAPN4751 y CAST2959: relación con la terneza de la carne en el ganado criollo limonero. *Revista Científica FCV-LUZ* Vol. XXV N° 3 mayo-junio pp. 232-238.
- White S., Casas E., Wheeler T., Shackel-Ford S., Koohmaraie M., Riley D., Chase C., Johnson D., Keele J. & Smith T. A. 2005. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos Taurus*, and crossbred descent. *J. Anim. Sci.* 83(9): pp. 2001-2008.