

Genética Molecular Aplicada: Nuevas Aplicaciones de la Genética Molecular, Genómica, Transcriptómica y Proteómica

A. Reverter

CSIRO Livestock Industries, 306 Carmody Rd., Brisbane, QLD 4067, Australia

E-mail: Tony.Reverter-Gomez@csiro.au

Resumen

En el presente artículo se ofrece una revisión del impacto que hasta la fecha han tenido las nuevas técnicas moleculares en el campo de la evaluación y mejora genética animal. Tres componentes diferenciados se abordan incluyendo la predicción del valor mejorante, la identificación de expresión diferencial a nivel del ARN, y los usos de las técnicas proteómicas. El artículo termina con la presentación, abierta a discusión, de una serie de consejos personales de uso práctico.

Palabras clave: Genética animal, Genómica animal, Proteómica animal

Summary

Applied Molecular Genetics: New Applications of the Molecular Genetics, Genomic, Transcriptomic and Proteomic

The present article offers a review of the impact that the new molecular techniques have had, and are having, in the field of genetic evaluation and improvement of livestock. Three clearly differentiated components are being discussed including the prediction of breeding value, the identification of differential expression at the level of the RNA, and the uses that proteomics techniques have revealed. The article finishes with the presentation, open for discussion, of a series of practical suggestions.

Key words: Animal genetics, Animal genomics, Animal proteomics

Introducción

La avalancha de herramientas moleculares genéticas, genómicas, transcriptómicas y proteómicas de la última década ha dejado al genetista cuantitativo dedicado a la mejora genética animal en una situación que sólo se puede clasificar de perversa. Cuando las características del tipo de datos que una herramienta emergente se consiguen entender hasta el punto de poder usar la información que aporta de una manera coherente, dicha herramienta se ve sustituida por una nueva supuestamente más eficaz y paradójicamente tanto o más asequible que la anterior.

Al mismo tiempo, parámetros tan básicos y perfectamente conceptualizados en el campo de la genética cuantitativa tradicional como es la heredabilidad se ven, en la era genómica, perturbados en su significado e incluso en ocasiones ignorados (Visscher *et al.*, 2008).

Ante semejante incongruencia, resulta pertinente reflexionar sobre cuáles han sido, y están siendo, las aplicaciones de la genética molecular en el campo de la evaluación y mejora genética animal y concentrándose en el impacto, no sólo científico sino también práctico, que se puede atribuir a dichas aplicaciones.

El presente artículo ofrece un recuento, aunque no exhaustivo, si con el suficiente alcance como para abordar los tres componentes principales incluyendo la predicción del valor mejorante, los estudios de expresión de genes a nivel del ARN, y los usos que hasta la fecha se han dado de las técnicas proteómicas. Revisiones similares se encuentran en Prayaga y Reverter (2007) y en Kadarmideen y Reverter (2007). Para el caso particular de los avances y aplicaciones genómicas en especies ganaderas, revisiones útiles incluyen las de Andersson y Georges (2004) y la de Womack (2005).

Finalmente, y puesto que el presente trabajo forma parte de la sesión plenaria que abre la XI Reunión Nacional de Mejora Genética Animal que se celebrará en Sevilla del 19 al 21 de Junio del 2008, me he tomado la libertad de usar una estructura menos rígida que la de los artículos puramente científicos y adoptando un todo divulgativo, y en ocasiones hasta jocosos, con la esperanza de despertar un diálogo ameno y, si cabe, una controversia sana.

Material y métodos y ...a veces Resultados

Predicción del Valor Mejorante –
De 'Caja Negra' a 'Cuarto Oscuro'

La predicción de fenotipos y la estimación de la contribución genética usa herramien-

tas maduras. Sin embargo, la base genética que, en mayor o menor medida, gobierna dichos fenotipos sigue mayormente desconocida. Estimaciones precisas de parámetros genéticos, incluyendo heredabilidades y correlaciones genéticas aditivas para caracteres de interés se obtienen resolviendo las ecuaciones de modelo mixto de Henderson (Henderson, 1984), las cuales implementan ideas que basan su origen en Fisher (1918). Desde mitad de la década de los 80, dichas herramientas se han usado de forma rutinaria para la realización de la evaluación y selección genética de especies ganaderas mediante predicciones lineales e inesgadas de los valores mejorantes. Mientras tanto, los genes causantes del mérito genético, o de la susceptibilidad a enfermedades, así como el mecanismo por el cual dichos genes actúan se han considerado una 'caja negra'.

De cara a entender dicho mecanismo, escaneos genómicos de baja densidad se han usado en varias especies (Patterson *et al.*, 1988; Andersson *et al.*, 1994; Georges *et al.*, 1995) siendo la intención principal la localización de 'quantitative trait loci' (QTL) y usando métodos que en su mayoría se diseñaron en la década anterior (Geldermann, 1975; Soller *et al.*, 1976; Lander y Botstein, 1989; Soller, 1990). Sin duda, QTL se han localizado usando estos procedimientos, y muchos parecían tener un efecto mucho mayor que el inicialmente esperado. La tabla 1 presenta

Tabla 1. Información sobre QTL existentes en cuatro especies ganaderas según la base de datos AnimalQTL (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>) en su versión 6 (8 de Enero del 2008).
Table 1. Information about existing QTLs in four livestock species according to the AnimalQTL Database (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>) as per Release 6 (Jan. 08, 2008).

	Cerdo	Vaca	Pollo	Oveja
Nº Publicaciones	113	71	45	14
Nº QTLs	1.831	1.123	657	53
Nº Caracteres	316	101	112	28

el número de publicaciones, QTLs y caracteres para cuatro especies ganaderas y de acuerdo a la base de datos AnimalQTL (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>). Cabe destacar que, incluso cuando la mutación responsable o causal de algunos de estos QTLs también ha sido identificada, la predicción fiable del fenotipo sigue ausente, excepto en los pocos casos en los que el gen mayor se ha identificado (Dekkers, 2004).

Acto seguido, varios métodos se propusieron para incorporar variaciones del ADN en la selección asistida por marcadores (MAS por 'marker assisted selection') usando modelos de herencia mixta que combinan el componente poligénico con un componente debido al efecto del QTL (Fernando y Grossman, 1989; Goddard, 1992; Hoeschele, 1993; Van Arendonk *et al.*, 1994; Saito y Iwaisaki, 1996; FRISCO y Melchinger, 2005 y 2006; Lee y Van der Werf, 2008). Sin embargo, los beneficios del MAS están limitados por la proporción de la varianza genética explicada por el QTL (Meuwissen y Goddard, 1996) y la incorporación de varios QTL en estos modelos representa una carga computacional prohibitiva.

Anticipando la llegada de escaneos genómicos de alta densidad basados en 'single nucleotide polymorphisms' (SNP), modelos teóricos, denominados selección genómica (Meuwissen *et al.*, 2001; Gianola *et al.*, 2006; Habier *et al.*, 2007) han demostrado, con datos simulados, que dichos métodos serían capaces de producir predicciones del valor mejorante con precisión equivalente o superior a la obtenida con métodos tradicionales. Dependiendo del método usado (medias mínimo cuadráticas, predicciones lineales inesgadas, o métodos Bayesianos), dichos estudios parecen indicar que la selección genómica puede generar predicciones con precisión mayor al 70%. Hasta la fecha, y aunque se sabe que la selección genómica ya se practica a nivel comercial por lo menos

en ganado vacuno lechero, el único estudio publicado con datos reales (Valdar *et al.*, 2006) usó 1.904 ratones y 13.459 SNPs. En dicho estudio, los autores hallaron que la varianza genética basada en QTLs era, como media, un 73% de la estimada con métodos tradicionales basados en pedigrís, aunque no intentaron predecir el fenotipo. La expectativa es que tamaños muestrales limitados resultarán en correlaciones pequeñas entre valores mejorantes estimados vía pedigrís y los estimados vía selección genómica, y que la magnitud de dicha correlación dependerá en gran medida en el método usado (Meuwissen *et al.*, 2001).

Sin embargo, mientras la selección genómica se hace, si se hace, una realidad rutinaria que sustituya a los métodos tradicionales en la selección genética animal, la disponibilidad de genotipados de SNPs en altas densidades ya está dando resultados tanto en el campo de la identificación nuevos QTL (Barendse *et al.*, 2007) como en el de mutaciones causales de fenotipos de interés (Charlier *et al.*, 2008).

Finalmente, y de forma similar a lo que el uso de los SNPs está dando en genética humana con respecto a la caracterización de grupos étnicos, se espera que las mismas técnicas permitan avanzar estudios filogenéticos en razas de especies ganaderas así como la reconstrucción precisa de genealogías. La Figura 1 presenta cómo un simple análisis de grupos jerarquizados aplicado a los 189 terneros genotipados por ~10 mil SNPs en Barendse *et al.* (2007) permite la distinción de las 7 razas ahí representadas.

Libertad de Expresión –
Bienvenido Mr. Microarray

Uno de los mejores intentos a 'iluminar el cuarto oscuro' se debe a los estudios de expresión genética vía microarrays. De forma

resumida, las cadenas de ARN mensajero localizadas a nivel citoplasmático se evalúan de forma exhaustiva. Lo que inicialmente se practicaba creando microarrays específicos a partir de librerías de clones extraídas de tejidos concretos (por ejemplo los casos de músculo y grasa en bovino de Lehnert *et al.* (2004), sistema inmunológico en bovinos (Donaldson *et al.*, 2005) y sistema inmunológico en porcino (Moser *et al.*, 2004)), ha pasado a realizarse usando microarrays de ámbito global y creados por laboratorios comerciales (por ejemplo, Affymetrix y Agilent).

Aunque la aplicación de microarrays en especies ganaderas se limita básicamente a los últimos cinco años, la adopción de dicha técnica

ha sido tan extendida que resulta imposible realizar una revisión exhaustiva. Sin embargo, la mayoría de los experimentos de microarray se pueden clasificar en una o más de las siguientes cuatro categorías: 1) Genes que muestran expresión diferencial entre fenotipos diferentes o extremos; 2) Genes que muestran expresión diferencial entre condiciones ambientales distintas; 3) Genes que muestran expresión diferencial en series de tiempo correspondientes a desarrollos biológicos como crecimiento; y 4) Genes que muestran expresión diferencial entre genotipos distintos. La tabla 2 presenta una serie de estudios publicados en cada una de dichas categorías y para varias especies ganaderas.

Tabla 2. Estudios de expresión genética en especies ganaderas según cuatro posibles categorías de hipótesis biológica

Table 2. Livestock microarray gene expression profiling experiments according to four possible categories of biological hypotheses

Categoría	Especie	Fenotipo	Tejido/Célula	Genes	Referencia
1. Fenotipos	Cerdo	Fertilidad	Ovario	71	Caetano <i>et al.</i> (2004)
	Cerdo	Fertilidad y Respiratorio	Yeyuno	25	Machado <i>et al.</i> (2005)
	Cerdo	Pleuroneumonía	Leucocitos	96	Moser <i>et al.</i> (2008)
	Cerdo	Enteritis	Gástrico	300	Niewold <i>et al.</i> (2005)
	Vaca	Respiratorio	Leucocitos	243	Murphy <i>et al.</i> (2006)
	Vaca	Johne's disease	Leucocitos	52	Skovgaard <i>et al.</i> (2006)
	Oveja	Nemátodos gastro-intestinales	Duodeno	41	Keane <i>et al.</i> (2006)
2. Ambientes	Vaca	Restricción nutricional	Músculo	57	Byrne <i>et al.</i> (2005)
	Vaca	Restricción nutricional	Músculo	78	Lehnert <i>et al.</i> (2006)
	Vaca	Stress del Transporte	Leucocitos	88	Sporer <i>et al.</i> (2008)
3. Desarrollo	Cerdo	Salmonella Choleraesuis	Pulmón	23	Zhao <i>et al.</i> (2006)
	Cerdo	Miogénesis	Músculo	18	Cagnazzo <i>et al.</i> (2006)
	Vaca	Miogénesis y Adipogénesis	Músculo	335	Wang <i>et al.</i> (2005a)
	Vaca	Adipogénesis (in-vitro)	Células madre	158	Tan <i>et al.</i> (2006)
	Vaca	Immunodepresión post-parto	Leucocitos	18	Burton <i>et al.</i> (2003)
4. Genotipos	Oveja	Dermatogénesis	Piel	132	Norris <i>et al.</i> (2005)
	Vaca	Wagyu y Holstein	Músculo	17	Wang <i>et al.</i> (2005b)
	Vaca	Wagyu y Piamontes	Músculo		Lehnert <i>et al.</i> (2007)
	Cerdo	Duroc y Pietrain	Músculo	9	Cagnazzo <i>et al.</i> (2006)
	Pollo	Arbor Acres (broiler) y Bai'er (ponedora)	Grasa	67	Wang <i>et al.</i> (2006)

Muchos grupos de investigación, algunos con carácter internacional, se han especializado en experimentos de microarray a gran escala. Ejemplos incluyen el CSREES en EEUU (<http://www.csrees.usda.gov/nea/animals/animals.html>), el BBRSC en el Reino Unido (<http://www.bbrsc.ac.uk/science/areas/as.html>), el SABRE en Europa (<http://www.sabre-eu.eu>), el FUGATO en Alemania (<http://www.fugato-forschung.de>), el Beef CRC en Australia (<http://www.beef.crc.org.au>) y SheepGenomics también en Australia (<http://www.sheepgenomics.org.au>).

Proteína Linda de Espectrometría de Oro

Proteómica es la más reciente de las aplicaciones de la genética molecular y consiste en el estudio de la identidad y cantidad de proteínas presentes en un tejido determinado. Sin embargo, debido principalmente a su alto costo, las aplicaciones proteómicas en animales se limitan más a la creación de vacunas y/o al estudio de zoonosis transmisibles al hombre, y menos a la producción y mejora genética animal. Otra importante limitación es que sólo se pueden detectar las proteínas que estén caracterizadas y almacenadas en una base de datos a disposición del usuario. Mientras es relativamente fácil detectar la presencia de proteínas cuya secuencia se haya altamente conservada entre especies (y que por lo general son también proteínas altamente expresadas), el cambio de un solo aminoácido en una proteína puede resultar en un cambio drástico en su masa peptídica.

En medicina humana, una alternativa al uso de roedores consiste en el estudio de enfermedades que ocurren de forma natural en especies ganaderas puesto que dichas enfermedades presentan una patología clínica y molecular muy similar a las enfermedades análogas en humanos. Esto ha dado lugar a lo que se conoce como '*Medicina Compara-*

da' y al establecimiento de bases de datos que catalogan enfermedades animales hereditarias como el Online Mendelian Inheritance in Animals (<http://omia.angis.org.au>; Nicholas 2003).

Trabajando con ovino, Morphew *et al.* (2007) realizaron un estudio proteómico de parásitos hepáticos. Comparando el jugo biliar de ovejas infestadas con el de ovejas sanas, los autores identificaron la presencia de seis proteínas que potencialmente se podrían usar como biomarcadores.

También en ovino, la paratuberculosis, conocida también como enfermedad de Johne's, se ha visto implicada como posible factor en el desarrollo de la enfermedad de Crohn's en humanos. Hughes *et al.* (2007) comparó micobacterias obtenidas de muestras de animales enfermos con micobacterias cultivadas *in vitro*. Diez proteínas se identificaron como sobre-expresadas en las muestras animales. Aunque el principal uso de dicho estudio consiste en el desarrollo de vacunas en medicina animal, también dicho estudio aporta conocimientos fundamentales en la relación entre parásito y huésped que son de aplicación a otras especies incluidas la especie humana.

Un ejemplo claro de medicina comparada usando vacuno es el estudio de Weekes *et al.* (1999) sobre dilatación miocárdica, una enfermedad hereditaria en los cruces entre Simmental y Holstein, y cuya etiología en humanos es multifactorial y va desde infecciones virales a excesos de alcohol y otros agentes tóxicos. Los autores identificaron la presencia de 35 proteínas diferencialmente expresadas entre tejido ventricular de vacuno afectado y control.

Finalmente, y quizás no de forma sorprendente, de entre los caracteres productivos de interés puramente comercial, la calidad de carne ha merecido recientes estudios en proteómica. Sayd *et al.* (2006) estudiaron los mecanismos bioquímicos relacionados con

el color de la carne de cerdo. Los autores encontraron que mientras los músculos oscuros poseen una abundante cantidad de proteínas mitocondriales, indicando un metabolismo oxidativo, los músculos claros presentan una abundancia de proteínas citoplasmáticas relacionadas con la glicolisis. De forma similar, Bauchart *et al.* (2006) aplicaron espectrometría de masas para identificar las proteínas presentes en varias muestras de carne de ternera cocinadas.

Discusión ...y consejos finales

No cabe duda que el furor que las herramientas moleculares ha traído entre los científicos dedicados a la mejora genética animal no está ajeno a una serie de críticas y polémicas que se repiten de forma más o menos constante, pero siempre más evidente entre los asistentes a congresos. Derivados de experiencias personales, a continuación se recogen una serie de conclusiones y consejos finales.

Ojo con la contaminación interdisciplinaria

Una condición necesaria, aunque no suficiente, para un uso exitoso de herramientas moleculares es la inclusión de personal investigador en el grupo de investigación con una buena base biológica en áreas como por ejemplo bioquímica, fisiología, etc. Sin embargo, encontrar el balance adecuado para cada proyecto específico puede conducir a la creación de grupos excesivamente heterogéneo donde las prioridades científicas están poco o mal canalizadas.

Escoge tus cartas y juega a lo grande

“La genética molecular lleva prometiando, prometiando y prometiando, pero hasta la fecha lo que más ha generado ha sido

decepciones” (congresista amigo, 2008). Aunque es posible que la búsqueda de QTLs sea uno de los fallos más espectaculares de la ciencia en la última década, no es menos espectacular el tamaño de los grupos y proyectos que han montado algunos individuos que han sido capaces de transmitir el entusiasmo por las técnicas moleculares.

No descuides la importancia del componente cuantitativo

Una conclusión que se deriva de los dos consejos anteriores es que la demanda por genetistas cuantitativos con habilidad para manejar y analizar de forma rigurosa grandes volúmenes de datos seguirá en aumento.

Fenotipo, fenotipo, fenotipo

Finalmente, una conclusión errónea que se deriva de las promesas ya mencionadas es que cada vez hará menos falta fenotipar a los individuos, o a sus parientes, para poder dar una predicción de su valor genético. Esto es una fantasía. En realidad, los centros que sigan manteniendo sus recursos animales (a ser posible no roedores), con capacidad para fenotipar una gran variedad de caracteres y con una buena colección de bancos de tejidos serán los que en mejor posición se hallen de cara a conseguir financiación.

Agradecimientos

Quisiera agradecer al Comité Organizador de la XIV Reunión Nacional de Mejora Genética Animal por la invitación a participar como ponente que abra la Sección I de dicha reunión. También quisiera agradecer a Eva Chan su asistencia en la generación de la figura 1.

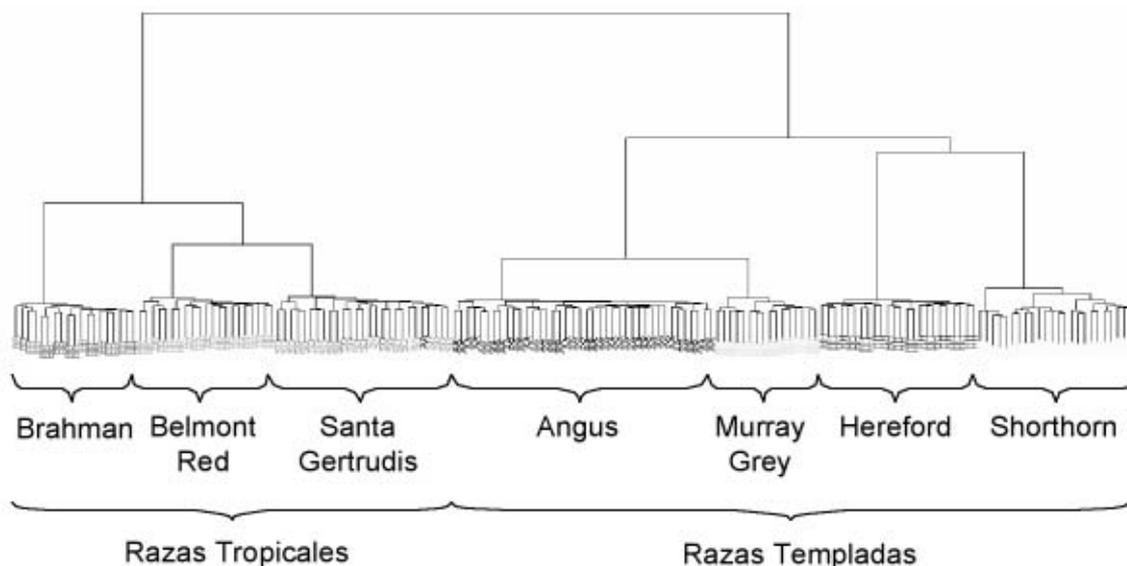


Figura 1. Análisis de grupos jerarquizados aplicado a los 189 terneros genotipados por ~10 mil SNPs en el trabajo de Barendse et al. (2007).

Figure 1. Hierarchical cluster analysis applied to the 189 steers that were genotyped for ~10 thousand SNPs in the work of Barendse et al. (2007).

Bibliografía

- Andersson L, Haley CS, Elengren H, Knott SA, Johansson M, Andersson K, Andersson-Eklund L, Edfors-Lilja I, Fredholm M, Hansson I, Hakansson J, Lundstrom K, 1994. Genetic-mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, 263, 1771-1774.
- Andersson L, Georges M, 2004. Domestic-Animal genomics: Deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 5, 202-212.
- Barendse W, Reverter A, Bunch RJ, Harrison BE, Barris W, Thomas MB, 2007. A validated whole genome association study of efficient food conversion in cattle. *Genetics*, 176, 1893-1905.
- Bauchart C, Rémond D, Chambon C, Patureau-Mirand M, Savary-Auzeloux I, Reynes C, 2006. Small peptides (<5 kDa) found in ready-to-eat beef meat. *Meat Science*, 74, 658-666.
- Byrne KA, Wang YH, Lehnert SA, Harper GS, McWilliam SM, Bruce HL, Reverter A, 2005. Gene expression profiling of muscle tissue in Brahman steers during nutritional restriction. *J. Anim. Sci.*, 83, 1-12.
- Caetano AR, Jonson RY, Ford JJ, Pomp D, 2004. Microarray profiling of differential gene expression in ovaries and ovarian follicles of pigs selected for increased ovulation rate. *Genetics*, 168, 1529-1537.
- Cagnazzo M, te Pas MF, Priem J, de Wit AA, Pool MH, Davoli R, Russo V, 2006. Comparison of prenatal muscle tissue expression profiles of two pig breeds differing in muscle characteristics. *J. Anim. Sci.*, 84, 1-10.
- Charlier C, Coppieters W, Rollin F, Desmecht D, Agerholm JS, Cambisano N, Carta E, Dardano S, Dive M, Fasquelle C, Frennet JC, Hanset R, Hubin X, Jorgensen C, Karim L, Kent M, Harvey K, Pearce BR, Simon P, Tama N, Nie H, Vandeputte S, Lien S, Longeri M, Fredholm M, Harvey RJ, Georges M, 2008. Highly effective SNP-based association mapping and management of recessive defects in livestock. *Nat Genet.*, 40, 449-54.

- Dekkers JCM, 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J. Anim. Sci.*, 82, E313-E328.
- Donaldson L, Vuocolo T, Gray C, Strandberg Y, Reverter A, McWilliam S, Wang Y, Byrne K, Tellam R, 2005. Construction and validation of a Bovine Innate Immune Microarray. *BMC Genomics*, 6, 135.
- Fernando RL, Grossman M, 1989. Marker assisted selection using best linear unbiased prediction. *Genet. Sel. Evol.*, 21, 467-477.
- Fisher RA, 1918. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans. Royal Soc. Edinburgh*, 52, 399-433.
- Frisch M, Melchinger AE, 2005. Selection theory for marker-assisted backcrossing. *Genetics*, 170, 909-917.
- Frisch M, Melchinger AE, 2006. Marker-based prediction of the parental genome contribution to inbred lines derived from biparental crosses. *Genetics*, 174, 795-803.
- Geldermann H, 1975. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. I. *Methods. Theor. Appl. Genet.*, 46, 319-330.
- Georges M, Nielsen D, Mackinnon M, Mishra A, Okimoto R, Pasquino AT, Sargeant LS, Sorensen A, Steele MR, Zhao X, Womack JE, Hoeschele I, 1995. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139, 907-920.
- Gianola D, Fernando RL, Stella A, 2006. Genomic-assisted prediction of genetic value with semiparametric procedures. *Genetics*, 173, 1761-1776.
- Goddard ME, 1992. A mixed model for analyses of data on multiple genetic markers. *Theor. Appl. Genet.*, 83, 878-886.
- Habier D, Fernando RL, Dekkers JCM, 2007. The Impact of Genetic Relationship Information on Genome-Assisted Breeding Values. *Genetics*, 177, 2389-2397.
- Henderson CR, 1984. *Applications of Linear Models in Animal Breeding*. University of Guelph Press. Guelph, Ontario, Canada.
- Hoeschele I, 1993. Elimination of quantitative trait loci equations in animal model incorporating genetic marker data. *J. Dairy Sci.*, 76, 1693-1713.
- Hughes V, Smith S, García-Sánchez A, Sales J, Stevenson K, 2007. Proteomic comparison of *Mycobacterium avium* subspecies grown *in vitro* and isolated from clinical cases of ovine paratuberculosis. *Microbiology*, 153, 196-205.
- Kadarmideen HN, Reverter A, 2007. Combined genetic, genomic and transcriptomic methods in the analysis of animal traits. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2, 1-16.
- Keane OM, Zadissa A, Wilson T, Hyndman DL, Greer GJ, Baird DB, McCulloch AF, Crawford AM, McEwan JC, 2006. Gene expression profiling of naïve sheep genetically resistant and susceptible to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics*, 7, 42.
- Lander ES, Botstein D, 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP maps. *Genetics*, 121, 185-199.
- Lee SH, Van der Werf JHJ, 2008. Simultaneous fine mapping closely linked epistatic quantitative trait loci using combined linkage disequilibrium and linkage with a general pedigree. *Genet. Sel. Evol.*, 40, 265-278.
- Lehnert SA, Byrne KA, Reverter A, Natrass GS, Greenwood PL, Wang YH, Hudson NJ, Harper GS, 2006. Gene expression profiling of bovine skeletal muscle in response to and during recovery from chronic and severe undernutrition. *J. Anim. Sci.*, 84, 3239-3250.
- Lehnert SA, Reverter A, Byrne KA, Wang Y, Natrass GS, Hudson NJ, Greenwood PL, 2007. Gene expression studies of developing bovine longissimus muscle from two different beef cattle breeds. *BMC Dev. Biol.*, 7: 95.
- Machado JG, Hyland KA, Dvorak CMT, Murtaugh MP, 2005. Gene expression profiling of jejunal Peyer's patches in juvenile and adult pigs. *Mammalian Genome*, 16, 599-612.
- Meuwissen THE, Goddard ME, 1996. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genet. Sel. Evol.*, 28, 161-176.

- Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME, 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157, 1819-1829.
- Morphew RM, Wright HA, Lacourse EJ, Woods DJ, Brophy PM, 2007. Comparative proteomics of excretory-secretory proteins released by the liver fluke *Fasciola hepatica* in sheep host bile during *in vitro* culture ex-host. *Mol. Cell. Proteomics*, 6, 963-972.
- Moser RJ, Reverter A, Lehnert SA, 2008. Gene expression profiling of porcine peripheral blood leukocytes after infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 121, 260-74.
- Murphy JT, Sommer S, Kabara EA, Verman N, Kuelbs MA, Saama P, Halgren R, Coussens PM, 2006. Gene expression profiling of monocyte-derived macrophages following infection with *Mycobacterium avium* subspecies *avium* and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Physiol. Genomics.*, 28, 67-75.
- Niewold TA, Kerstens HHD, van der Meulen J, Smits MA, Hulst MM. 2005. Development of a porcine small intestinal cDNA micro-array: characterization and functional analysis of the response to enterotoxigenic *E. Coli*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 105, 317-329.
- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD, 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 335, 721-726.
- Prayaga K, Reverter A, 2007. Precision animal breeding. In *Redesigning Animal Agriculture: The Challenge of the 21st Century*. CABI, Northampton Way, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK (ISBN: 9781845932237).
- Saito S, Iwaisaki H, 1996. A reduced animal model with elimination of quantitative trait loci equations for marker-assisted selection. *Genet. Sel. Evol.*, 28, 465-477.
- Sayd T, Morzel M, Chambon C, Franck M, Figwer P, Larzul C, Le Roy P, Monin G, Chrel P, Laville E, 2006. Proteome analysis of the sarcoplasmic fraction of pig semimembranosus muscle: Implications on meat colour development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2732-2737.
- Skovgaard K, Grell SN, Heegaard PM, Jungersen G, Pudrith CB, Coussens PM, 2006. Differential expression of genes encoding CD30L and P-selectin in cattle with Johnes's disease: progress toward a diagnostic gene expression signature. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 112, 210-24.
- Soller M, Broday T, Genizi A, 1976. Power of experimental designs for detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor. Appl. Genet.*, 47, 35-39.
- Soller M, 1990. Genetic-mapping of the bovine genome using deoxyribonucleic acid-level markers to identify loci affecting quantitative traits of economic importance. *J. Dairy Sci.*, 73, 2628-2646.
- Sporer KR, Xiao L, Tempelman RJ, Burton JL, Earley B, Crowe MA, 2008. Transportation stress alters the circulating steroid environment and neutrophil gene expression in beef bulls. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 121, 300-320.
- Tan SH, Reverter A, Wang Y, Byrne KA, McWilliam SM, Lehnert SA, 2006. Gene expression profiling of bovine *in vitro* adipogenesis using a cDNA microarray. *Funct. Integr. Genomics.*, 6, 235-49.
- Valdar W, Solberg LC, Gauguier D, Burnett S, Klennerman P, Cookson WO, Taylor MS, Rawlins JN, Mott R, Flint J, 2006. Genome-wide genetic association of complex traits in heterogeneous stock mice. *Nat. Genet.*, 38, 861-862.
- Van Arendonk JAM, Tier B, Kinghorn BP, 1994. Use of multiple genetic markers in prediction of breeding values. *Genetics*, 137, 319-329.
- Visscher PM, Hill WG, Wray NR, 2008. Heritability in the genomics era – concepts and misconceptions. *Nature Rev. Genet.*, 9, 255-266.
- Wang YH, Reverter A, Mannen H, Taniguchi M, Harper GS, Oyama K, Byrne KA, Oka A, Tsuji S, Lehnert SA, 2005a. Transcriptional profiling of muscle tissue in growing Japanese Black cattle to identify genes involved with the develop-

- ment of intramuscular fat. *Aust. J. Exp. Agric.*, 45, 809-820.
- Wang YH, Byrne KA, Reverter A, Harper GS, Taniguchi M, McWilliam SM, Mannen H, Oyama K, Lehnert SA, 2005b. Transcriptional profiling of skeletal muscle tissue from two breeds of cattle. *Mamm. Genome*, 16, 201-210.
- Wang H, Li H, Wang Q, Wang Y, Han H, Shi H, 2006. Microarray análisis of adipose tissue gene expresión profiles between two chicken breeds. *J. Biosci.*, 31, 565-573.
- Weekes J, Wheeler CH, Yan JX, Weil J, Eschenhagen T, Scholtysik G, Dunn MJ, 1999. Bovine dilated cardiomyopathy: Proteomic analysis of an animal model of human dilated cardiomyopathy. *Electrophoresis*, 20, 898-906.
- Womack JE, 2005. Advances in livestock genomics: opening the barn door. *Genome Research*, 15, 1699-1705.

(Aceptado para publicación el 28 de abril de 2008)