

Programa de mejoramiento genético para características económicas en razas cebuinas lecheras

Ariosto Ardila Silva*

RESUMEN

En regiones tropicales, las razas bovinas Gyr y Guzerat, pertenecientes a la subespecie *Bos indicus*, son las más exploradas en la industria lechera, entre otras razones, porque están más adaptadas al clima tropical. Gyr y Guzerat son razas cebuinas comunes en Brasil, y son utilizadas para generar las razas sintéticas Gyrolando (5/8 Holstein: 3/8 Gyr) y Guzolando (5/8 Holstein: 3/8 Guzerat), en orden a combinar una buena producción y tolerancia al calor y los parásitos en el trópico. Programas de mejoramiento para las características de importancia económica en cebú lechero, han sido introducidos recientemente en Brasil, basados en el uso de reproductores ge-

néticamente superiores de los diferentes rebaños. El principal objetivo de QTL (*loci* de características cuantitativas) y genes candidatos, es encontrar genes y marcadores que puedan ser implementados en programas de mejoramiento a través de la selección asistida por marcadores (MAS). En cebuinos lecheros, la selección asistida por marcadores puede ser usada para preseleccionar toros candidatos jóvenes para pruebas de progenie, incrementando así, el diferencial de selección, reducción del intervalo generacional e incrementando el mérito genético.

Palabras clave: QTL, progreso genético, genes candidatos, *Bos indicus*.

* Licenciado en Ciencias de la Educación, Zootecnista especialista en Producción en ganado de leche, M.Sc. en Genética de Poblaciones, Ph.D. en Genética y Mejoramiento de la Universidad Federal de Viçosa. Correo electrónico: ariosto.silva@ufv.br

Agradecimientos a la Universidad Federal de Viçosa y a la EMBRAPA ganado de leche, Brasil.

Fecha de recepción: septiembre 17 de 2009.

Fecha de aprobación: febrero 26 de 2009.

BREEDING PROGRAMS FOR THE MAIN ECONOMICALLY IMPORTANT TRAITS OF ZEBU DAIRY CATTLE

ABSTRACT

In tropical regions, Gyr and Guzerat breeds (*Bos indicus*) are most explored for dairy industry and are much more adapted to climate. Gyr and Guzerat are Zebu breeds very common in Brazil and they are being used to generate *Bos taurus* x *Bos indicus* crosses in order to combine good production, heat and parasite tolerance on the tropics. Breeding programs for the main economically important traits of Zebu

dairy cattle have been recently introduced in Brazil and is based on the use of genetically superior sires in the herds. A major objective of QTL (Quantitative Trait Loci) and candidate genes is to find genes and markers that can be implemented in breeding programs across marker assisted selection (MAS). In Zebu dairy cattle MAS could be used to pre-select young candidate bulls to progeny testing, thus increasing selection differentials, shortening generation interval and increasing genetic gain.

Keywords: QTL, breeding value, candidate genes, *Bos indicus*.

INTRODUCCIÓN

La producción de leche y sus diferentes componentes es función de la genética del animal, del medio ambiente (alimentación, sanidad, etc.) y de la interacción genotipo/ambiente. El medio ambiente es frecuentemente reducido a las condiciones que afectan físicamente al animal; es decir, luz, temperatura, humedad relativa, ventilación y otras condiciones físicas para ofrecer más confort. En genética, el medio ambiente posee un significado más amplio y es entendido como la combinación de todos los factores, con excepción de los de naturaleza genética, que afectan la expresión de los genes. Por ejemplo, la producción de leche de una vaca es afectada por su edad, año y época de parto, aspectos nutricionales y otros factores. En condiciones tropicales, por problemas asociados con el clima y a un manejo influenciado por diferentes limitaciones de recursos, las razas *Bos taurus* no han presentado el mismo desempeño que el obtenido en países de clima estacional. En contraste, las razas *Bos indicus* presentan buena capacidad de adaptación a esas condiciones limitantes, pero sus producciones son bajas.

Brasil, líder en programas de mejoramiento en el trópico, ha obtenido importantes avances en progreso genético en su rebaño de leche por medio del mejoramiento clásico y de técnicas reproductivas como inseminación artificial y, más recientemente, con transferencia de embriones y fecundación *in vitro*, principalmente para características de fácil medida y alta heredabilidad. Características cuantitativas complejas de medida tardía, baja heredabilidad y limitadas por el sexo, han sido más difíciles de ser mejoradas con base exclusivamente en el mejoramiento cuantitativo.

Las ganancias genéticas pueden ser aceleradas mediante el uso de la genética molecular aplicada al mejoramiento animal, principalmente a través de marcadores moleculares asociados a *loci* de características cuantitativas (QTL) y genes candidatos, como parte de la selección asistida por marcadores (MAS).

La presente revisión, sin pretender ser exhaustiva, tiene como objetivo presentar algunas biotecnologías moleculares como auxilio y complemento del mejoramiento genético animal cuantitativo en el progreso genético de las razas cebuinas lecheras.

PROGRESOS DEL MEJORAMIENTO CUANTITATIVO DE LA RAZAS GYR Y GUZERAT

Es importante tener presente que en las razas no existen tipos raciales diferentes para leche, carne o doble propósito. La raza es una sola. Lo que existen son diferencias en los objetivos o prioridades de selección entre rebaños y diferencias individuales entre los animales en la capacidad productiva. Así, el término “Gyr Lechero”, o “Guzerat Lechero”, es usado para designar animales superiores en la producción de leche o rebaños seleccionados para esta característica (Madalena, 2008).

En la tabla 1 se presentan promedios para algunas características productivas y reproductivas de la raza Gyr Lechera en Brasil, como parte del control oficial. En el Catálogo Brasileiro de Toros (resultado de la prueba de progenie 2009) se encuentran PTA (*Predicted Transmitting Ability*) para leche, grasa, proteína, lactosa, sólidos totales y resultados de estudios moleculares para *kappa caseína* y *beta lacto-globulina*, proteínas importantes en el proceso de rendimiento del queso. Se observa que para una lactancia con promedio de 288 días, la producción promedio de leche fue de 2.990 kg, y 2.789 kg de leche para una lactancia de 305 días. Estos valores son superiores a los promedios de producción de leche en Brasil. Teniendo en cuenta sólo el 25% de los rebaños con las mejores producciones promedio, se observa para 305 días de lactancia, que el promedio de producción de leche fue mayor (3.960 frente a 2.789) con mayor porcentaje de grasa (4,7 contra 4,5) y mayor duración de la lactancia (315 frente a 288). La producción total promedio en la lactancia fue 4.364 kg contra 2.990 kg.

Tabla 1. Desempeño productivo y reproductivo de vacas Gyr en control lechero oficial en Brasil

Característica	Observaciones	Promedio	Máximo	25% Mejores Rebaños	
				Observaciones	Promedio
Producción de leche/lactancia (305 días) kg.	38.331	2.789	17.931	7.087	3.960
Producción de leche total en lactancia* (kg)	38.331	2.990	18.343	7.087	4.364
Duración de lactancia (días)	38.331	288	770	7.087	315
Porcentaje de grasa (%)	20.099	4,5	8,0	4541	4,7
Edad al primer parto (meses)	10.457	44,7	65,5	2125	43,2
Intervalo entre partos (meses)	19.763	16,1	24	3588	16,1

* Ajustada para edad adulta (7 a 8 años).

Fuente: Embrapa Ganado Lechero, 2007.

En datos publicados por Verneque *et ál.* (2008), se corrobora la evolución que ha sufrido la raza en Brasil para la característica de producción de leche: animales nacidos en 1970 presentaron un promedio de producción de leche de aproximadamente 1.500 kg, ya para animales nacidos en 1991 presentaron producciones promedio de 2.355 kg de leche en 305 días y 2.443 kg en la lactancia. Animales nacidos en 2002 mostraron promedios de 3.289 y 3.583 kg de leche para 305 días y lactancia total, respectivamente.

Iguales resultados se han obtenido para composición de leche.

Para la raza Guzerat en Brasil, en la tabla 2 son presentados los promedios para algunas características productivas y reproductivas. Se observa que el promedio de producción de leche en 305 días de lactancia, partiendo del 25% de los rebaños más productivos, fue de 2.921 kg de leche, aunque el aumento en la producción no produjo aumento significativo en el intervalo entre partos.

Tabla 2. Desempeño productivo y reproductivo de la raza Guzerat bajo control lechero oficial y con participación en la prueba de progenie

Característica	Observaciones	Promedio	Máximo	25% Mejores Rebaños	
				Observaciones	Promedio
Producción de leche/lactancia (305 días) kg.	2.298	2.339	7.234	535	2.921
Producción de leche total en lactancia* (kg)	2.298	2.400	7.255	535	3.017
Duración de lactancia (días)	2.298	285	554	535	299
Porcentaje de grasa (%)	851	4,9	6,9	234	5
Edad al primer parto (meses)	575	44,2	64,7	129	45,4
Intervalo entre partos (meses)	1.040	14,9	21	227	15,3

* Ajustada para edad adulta (7 a 8 años).

Fuente: Embrapa Ganado Lechero, 2007.

PRUEBAS DE PROGENIE

En mejoramiento genético animal, el proceso de selección requiere estimar el valor genético de los reproductores a ser utilizados como padres de futuras generaciones. La evaluación genética puede ser realizada teniendo en cuenta las informaciones del propio individuo, informaciones de familia que pueden incluir datos de su *pedigree* o de su progenie, o la combinación de éstas. Es importante resaltar que a mayor número de informaciones usadas para la evaluación de un animal, más precisión se obtendrá en los resultados. El valor genético (VG) es lo que el animal transmite a su progenie, relacionado con la producción promedio de la población o en relación a las compañeras. La capacidad prevista de transmisión (PTA) es una medida de desempeño esperado del animal en relación al promedio del rebaño. La PTA es la mitad del VG, y es el término que se usa cuando la evaluación genética es calculada usando el modelo animal.

La confiabilidad de un programa de selección para producción de leche depende, en mayor medida, de los machos que de las hembras, porque los toros producen más descendientes, siendo mayor la intensidad de selección en toros que en vacas. Como la producción de leche no puede ser medida directamente en los machos, la evaluación genética debe ser basada en la producción de parientes próximos, resultando mayor confiabilidad cuando se usa la producción de sus hijas (Prueba de Progenie). Dentro de la metodología para evaluación de toros se encuentran: método basado en la comparación madre/hija, método de comparación con compañeras de rebaño y comparación con contemporáneas, método basado en la producción promedio de las hijas, método de mínimos cuadrados y método de modelos mixtos (usando modelo toro o modelo animal).

PERSPECTIVAS DE LA GENÉTICA MOLECULAR EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LAS RAZAS CEBUINAS LECHERAS

La identificación directa de variaciones útiles en genes y en secuencias de ADN está proporcionando nuevas oportunidades para la manipulación genética de características de relevancia agropecuaria y de impacto en el mercado consumidor. Integrando diferentes metodologías, y con la participación de la biología molecular, genética, y biología computacional, el foco central de la genómica pasó a ser el estudio de la estructura, función y evolución de genomas completos y genes específicos, utilizando tecnologías de secuenciamiento de ADN, mapeamiento genético y físico, y expresión genética diferencial (Grattapaglia & Ferreira, 2006). La variabilidad alélica es la base del mejoramiento genético animal, y la combinación adecuada de alelos en los *loci* que controlan características de interés económico, es el principal objetivo de la selección artificial promovida por los programas de mejoramiento.

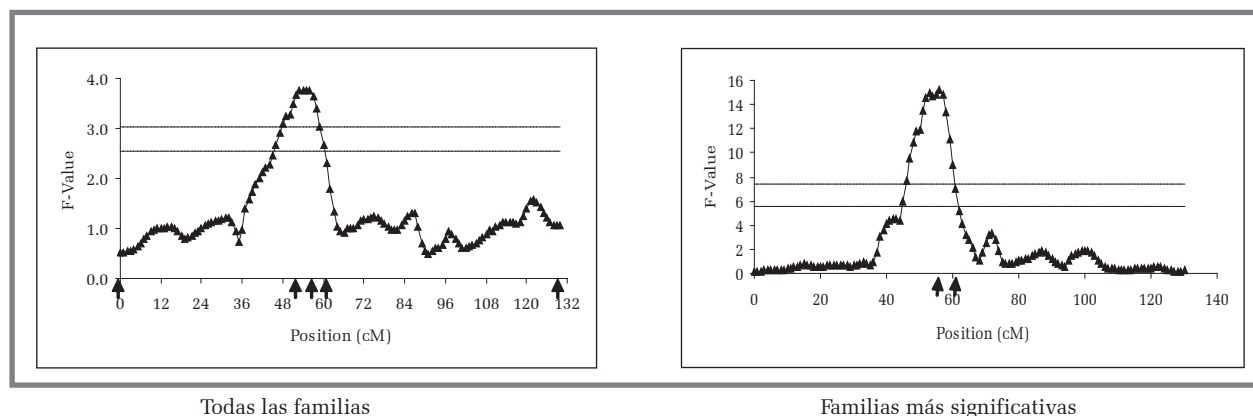
Los diferentes avances tecnológicos en el área de genética molecular, pueden contribuir para auxiliar el mejoramiento con la identificación de individuos genéticamente superiores utilizando marcadores moleculares, enmarcados dentro de la selección asistida por marcadores (MAS). Mediante la identificación de QTL y Genes Candidatos en el cromosoma 6 de la raza Gyr, asociados a producción de leche, proteína y grasa, al igual que porcentaje de proteína y grasa.

Ardila (2009) encontró QTL para estas características cuantitativas y cualitativas en leche, siendo más significativos para porcentaje de grasa (figura 1). Considerando todas las familias identificó un QTL con $P < 0,01$ y $F = 3,76$, en la posición 53 cM, (centiMorgans) próximo al marcador DIK4482 (54,51 cM). Con las dos familias más significativas, fue identificado el QTL,

en la posición 56 cM, próximo al marcador DIK4482, con $P < 0,01$ e $F = 15,18$. En esta región, Ron *et ál.* (2001) detectaron dos QTL en las posiciones 50 e 54 cM; Georges *et ál.* (1995) identificaron un QTL en la posición 51 cM; Boichard *et ál.* (1997) identificaron un QTL en la posición 58 cM; y Ashwell *et ál.* (2002) mapearon un QTL en la posición 58 cM. Aunque

exista gran diversidad genética observada entre razas taurinas e indianas, los QTL encontrados en el cromosoma 6 de la raza Gyr relacionados con características de producción de leche son conservados, lo que prueba indirectamente que alelos de genes candidatos relacionados con esas características de producción en el mismo cromosoma fueron fijados.

Figura 1. Valor de F para porcentaje de grasa considerando todas las familias y las dos familias más significativas.



Las flechas indican la posición de los marcadores DIK4382 (50,09 cM), DIK4482 (54,51 cM) y MNB-208 (60,21 cM).
 — 5% e ---- 1% de significancia a nivel cromosómico.

MARCADORES MOLECULARES

El marcador molecular de ADN es una técnica que permite detectar diferencias en la secuencia del ADN, posibilitando la selección indirecta para genes de interés en el mejoramiento. El mérito genético para características de difícil medida, baja heredabilidad y limitadas por el sexo, podrá ser aumentada con la utilización de marcadores moleculares en el auxilio de la selección. La identificación individual a nivel molecular contribuirá con una mejor utilización de los recursos genéticos. Existe una amplia gama de marcadores moleculares, entre los más comunes se encuentran isoenzimas, RFLP (*Restriction Fragment length Polymorphism*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic ADN*), AFLP (*Amplified Fragment Length*

Polymorphism), SSCP (*Single Stranded Conformation Polymorphism*), microsatélites y SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*). Cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas, aunque algunos son más eficientes en relación a otros, principalmente en el aspecto de repetibilidad o en relación a la característica de dominancia (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Los genomas de organismos eucariotas están densamente poblados por secuencias simples repetidas, las cuales consisten de uno a seis nucleótidos repetidos en tándem. Esas regiones son denominadas microsatélites, SSR (*Simple Sequence Repeats*) o STR (*Short Tandem Repeats*). Las secuencias de ADN que flanquean los microsatélites, generalmente son conservadas entre los individuos de una misma especie, permitiendo la selección de *primers* que son especí-

ficos y que amplifican vía PCR (*Polymerase Chain Reaction*), fragmentos conteniendo el ADN repetitivo en todos los genotipos (Borém & Teixeira, 2006).

Los SNP son mutaciones de punto, es decir, alteraciones en un solo nucleótido a lo largo de la secuencia del ADN. Dichas alteraciones ocurren en todo el genoma, con una frecuencia aproximada de 1 SNP por cada 1000 pares de base (pb) en el genoma de los mamíferos. Son dialélicos, codominantes, reproducibles y de fácil detección. Aunque se encuentran en el genoma en mayor número que los microsatélites, son menos informativos, mientras que los microsatélites son de naturaleza multialélica.

LOCI DE CARACTERÍSTICAS CUANTITATIVAS – QTL

El objetivo de descubrir el relacionamiento complejo entre variabilidad genómica y diversidad fenotípica, para definir la función genética, se ha basado en dos metodologías: la genética reversa (*reverse genetics*), es decir, partiendo de la secuencia del gen en dirección al fenotipo; y la genética directa (*forward genetics*), partiendo del fenotipo en dirección al gen. Esta última, busca identificar el gen o genes y los polimorfismos de secuencia que están detrás de determinado fenotipo. Con recientes avances en tecnologías genómicas han posibilitado la clonación de QTL, o sea, la identificación de las secuencias de ADN codificante o secuencias regulatorias (no-codificante) responsables por los QTL. La identificación del gen o de los genes involucrados en la definición del fenotipo observado requiere un abordaje de clonación posicional, llamado también clonación basada en mapeamiento. Este abordaje experimental está basado en la identificación de marcadores moleculares genéticamente unidos y próximos a la característica de interés, seguido de un procedimiento de paseo cromosómico (*chromosome walking*) (Wicking & Williamson, 1991), para identificar, aislar y caracterizar el gen o los genes responsables por la característica.

El principio básico para la identificación de QTL es que los marcadores moleculares se encuentren unidos a los *loci* que controlan las características de interés. Para identificar QTL por ligamiento, se evalúan los individuos por su genotipo para el marcador y por su fenotipo para la característica cuantitativa. En el caso que existan diferencias entre los promedios fenotípicos de las clases genotípicas establecidas para el marcador, puede inferirse la presencia de un QTL unido a este último. Para el análisis de QTL puede ser aplicado un test-t de diferencias entre promedios. Alternativamente, se puede emplear regresiones lineales para cada marcador en relación a la(s) característica(s) cuantitativa(s), y el grado de significancia estadística obtenido es indicativo de ligamiento genético (Grattapaglia & Ferreira, 1998). El principal objetivo del mapeamiento de QTL es caracterizar los genes afectando las características e identificar las mutaciones básicas de la variancia genética, produciendo una importante comprensión dentro de la estructura y función del genoma, siendo un complemento importante en el mejoramiento animal tradicional (Olsen *et ál.*, 2005).

GENES CANDIDATOS

Otro procedimiento para detectar asociación entre marcadores y QTL, es a través de genes candidatos, basado en el estudio de la variación fenotípica para una característica, con relación al nivel de polimorfismo del ADN, en la secuencia de genes previamente conocidos por estar involucrados en la fisiología y desarrollo de la característica (Rothschild & Soller, 1997). Cuando se encuentra una asociación, la selección para la variación de la secuencia del gen va a tener indirectamente un efecto en la característica.

Los genomas humano y del ratón, son útiles en la selección de genes candidatos, mediante mapeo comparativo, ya que estos dos genomas son los más estudiados dentro de los mamíferos. Según Rothschild & Soller (1997), una ventaja de esta metodología, con

relación a marcadores anónimos es que, una vez detectado un QTL, no es necesario realizar un mapeamiento posicional, que es un procedimiento complejo y demorado.

SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES (MAS)

La práctica de la selección indirecta para características de baja heredabilidad puede ser intensamente explorada desde que los genes de interés estén fuertemente unidos a marcadores moleculares. La selección de individuos, que poseen alelos favorables para los genes que controlan características de interés, basada en la evaluación directa de su ADN, es denominada selección asistida por marcadores (MAS). La MAS utiliza las informaciones de regiones específicas de los cromosomas, en las que se localizan los genes que afectan las características cuantitativas (QTL), para identificar individuos con combinaciones favorables de QTL (Machado & Martínez, 2001).

La MAS es fundamental en programas de mejoramiento, relacionados con características de producción, así como resistencia a enfermedades. Como la enfermedad compromete la expresión de los caracteres relacionados a la producción, entonces, la selección para resistencia a enfermedades va influenciar en la selección para producción. La selección para resistencia a enfermedades puede realizarse con marcadores moleculares, lo que evita exponer el animal a la enfermedad, y posibilita una selección eficiente para las características de producción.

Algunas enfermedades, por ejemplo, deficiencia adhesiva de leucocitos (BLAD) y la mieloencefalopatía degenerativa progresiva (Weaver), están bien caracterizadas a nivel molecular. Animales genéticamente portadores pueden ser detectados mediante examen de ADN, lo que permite descartarlos del rebaño, evitando así, la diseminación de dichas enfermedades (Jorgensen e Mandsen, 1997). Algunas ventajas de la

MAS que complementan el mejoramiento cuantitativo son aumento de la ganancia genética por generación; no es limitada por el sexo, por ejemplo, se pueden seleccionar toros para producción de leche; seleccionar animales desde los estadios iniciales del desarrollo embrionario; permite seleccionar animales jóvenes, disminuyendo el intervalo de generación; facilita la combinación de QTL de diferentes razas; y acelera los programas de introgresión de genes.

Como se ha mencionado anteriormente, las tecnologías de genética molecular están basadas en secuenciamento de ADN, mapeamiento genético y físico, y expresión genética. Algunos trabajos en desarrollo sobre bovinos de leche, están relacionados con la expresión genética, que es la conversión de la información contenida en los genes en proteína. A partir del análisis del transcriptoma, que es un conjunto de ARN mensajero (mARN) de un sistema (tejido, órgano, célula u organismo) que están activos en diferentes condiciones ambientales y fases de desarrollo, es posible: descubrir nuevos genes relacionados con características de producción, y resistencia a enfermedades; determinar cuáles genes están siendo expresos en un determinado tipo de célula, y en un momento dado y bajo ciertas condiciones; examinar cambios en la expresión de los genes en diferentes estadios del ciclo de la célula; descubrir nuevos medicamentos; y detección de mutaciones/polimorfismos. El análisis del transcriptoma puede ser realizado mediante RT-PCR (*Real Time-PCR*), DDTRT-PCR (*Differential Display Reverse Transcription-PCR*), Q-PCR (*Quantitative-PCR*), *Arrays* y bibliotecas de ADN complementario (cADN). Las bibliotecas de cADN pueden ser conformadas por EST (*Expressed Sequence Tags*), ORESTES (*Open Read Frame EST*) y SAGE (*Serial Analysis of Gene Expression*).

CONCLUSIONES

Una primera aplicación de la genética molecular es la identificación de animales resistentes a garras

patas, estrés calórico, vermes, mastitis y demás enfermedades propias de los trópicos. A partir de los QTL significativos y genes candidatos identificados en las razas cebuinas lecheras, podrán ser utilizados en el programa de Prueba de Progenie de la raza, en la pre-selección de toros jóvenes, aumentando el mérito genético y pudiendo mantener aquellos animales con un alto potencial genético y descartando aquellos con bajo potencial, evitando sobre costos en el mantenimiento de animales durante varios años.

Dados los avances y aplicaciones de las diferentes herramientas reproductivas en el país, será posible utilizar estos QTL significativos en embriones producidos *in vitro* o por la TE, en que simplemente, algunas células de esos embriones serían suficientes para indicar una característica deseada y optar o no, para su transferencia para la receptora. De esta manera, un animal con un valor genético superior, se seleccionaría, incluso, en los estadios iniciales del desarrollo embrionario.

BIBLIOGRAFÍA

- Ardila, A. "Mapeamento de QTL para características de produção de leite no cromossomo 6 em rebanhos Gyr leiteiro". Tese. Doutorado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa. 2009.
- Ashwell, M. S., Schnabel, R.D., Sonstegard, T.S. and van Tasell, C.P. Fine-mapping of QTL affecting protein percent and fat percent on BTA6 in a popular U. S. Holstein family. Section 09-29 in Proc. 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Montpellier, France. 31 (2002): 123-126.
- Boichard, D., and Bishop, M.P. Detection of QTL influencing milk production and mastitis resistance with a granddaughter design in Holstein cattle: An overview. Paper in 48th Annu. Mtg. EAAP, Commissions on Genetics and Cattle Production, Vienna, Austria, 1997.
- Borém, A. e Teixeira, E. *Marcadores Moleculares*. Viçosa: Editora UFV, 2006.
- Ferreira, M.E. e Grattapaglia, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. (3 ed.). Brasília: Embrapa, CENARGEN, 1998.
- Georges, M., D. Nielsen, M. Mackinnon, A. Mishra, R. Okimoto, A. T. Pasquino, L. S. Sargent, A. Sorensen, M. R. Steele, X. Zhao, J. E. "Womack and I. Hoeschele. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing". *Genetics*, 139. (1995): 907-920.
- Grattapaglia, D. e Ferreira M.E. "Mapeamento físico e clonagem posicional em plantas". *Marcadores moleculares*. Viçosa: MG, 2006.
- Jorgensen, N.P., e Mandsen, P. "Genetic parameters for BLAD effects on beef production traits and disease frequency". *Acta Agricultura Scandinavica Section A, Animal Science* 47. (1997):1-8.
- Machado, M.A. e Martínez, M.L. "Acelerando o melhoramento com o mapeamento do genoma bovino". *Informe Agropecuário* 22. (2001): 98-104.
- Madalena, F.E. "Estratégias de uso de recursos genéticos visando melhorar a qualidade do leite e derivados". VII Simposio Brasileiro de Melhoramento Animal. São Carlos, SP: 10 y 11 de julio de 2008.
- Olsen, H. G., S. Lien, M. Gautier, H. Svendsen, H. Nilsen, A. Roseth, P. R. Berg, K. K. Sundsaasen, M. Svendsen, and T. H. E. Meuwissen. "Mapping of a milk production quantitative trait locus to a 420-kb region on bovine chromosome 6". *Genetics* 169. (2005): 275-283.

- Ron, M., D. Kliger, E. Feldmesser, E. Seroussi, E. Ezra, and J. I. Weller. "Multiple quantitative trait locus analysis of bovine chromosome 6 in the Israeli Holstein population by daughter design". *Genetics* 159. (2001): 727-735.
- Rothschild, M.F. and Soller, M. "Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock". *Probe* 8. (1997): 13-20.
- Verneque, R.S., Peixoto, M.G., Filho, A.E., Machado, M.A., Barbosa, M.V., Fernandes, A.R. e Machado, C.H. Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro – Sumario Brasileiro de Touros – Resultado do Teste de Progênie. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, 2008.
- Verneque, R.S. Programa nacional de Melhoramento do Zebu leiteiro – Teteste de Progenie e núcleo MOET nas raças Gyr e Guzerá/Sistemas de avaliação linear/pesos económicos, 2008.
- Wicking, C. and Williamson, B. "From linked marker to gene". *Trends Genet* 7. 9. (1991): 228-293.