

Polimorfismo genético de beta-lactoglobulina y alpha-lactoalbúmina en el ganado criollo colombiano, mediante PCR-SSCP

Genetic polymorphism of beta-lactoglobulin and alpha-lactoalbumin in Colombian Creole cattle by PCR-SSCP

Jaime A. Rosero-Alpala^{*}, Luz Ángela Álvarez-Franco[†], y Jaime Eduardo Muñoz-Flórez[‡]

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 237. Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

*Autor para correspondencia: j_roseroa@yahoo.com.mx; †laalvarezf@unal.edu.co; ‡jemunozf@unal.edu.co

Rec.: 19.05.11 Acept.: 30.12.11

Resumen

La población de ganado criollo colombiano ha venido presentando una inquietante disminución al pasar de 23.415 ejemplares en 1999 a 20.102 en 2003. A pesar de los esfuerzos por recuperar las razas criollas el panorama para su conservación es incierto, por tanto la búsqueda de caracteres deseables puede contribuir a su valoración y conservación. Los genes relacionados con el mejoramiento de la calidad de la leche producida por estas razas se consideran de gran importancia en la industria láctea, por tal razón y con el objetivo de caracterizar los genes beta-lactoglobulina y alpha-lactoalbúmina se analizaron 30 muestras de sangre de cada una de las razas criollas (Blanco Orejinegro, Caqueteño, Casanareño, Costeño con cuernos, Chino Santandereano, Hartón del Valle, Romosinuano y Sanmartinero), dos razas sintéticas colombianas (Lucerna y Velásquez) y dos razas foráneas (Holstein y Brahman). Se amplificaron fragmentos de 262pb para beta-lactoglobulina (β -LG) y de 166 pb para alpha-lactoalbúmina (α -LA) que se genotipificaron mediante PCR-SSCP. El promedio de la frecuencia para β -LG A y β -LG B fue de 0.46 ± 0.020 y de 0.53 ± 0.020 , respectivamente, y de 0.35 ± 0.019 para α -LA A y 0.64 ± 0.019 para α -LA B. El promedio de diversidad genética (H_e) para β -LG fue 0.498 y de 0.455 para α -LA. Los ganados criollos representan una base genética valiosa, como alternativa para mejorar genéticamente los hatos destinados a la producción de leche con mejores características en calidad para la industria láctea.

Palabras clave: α -LA, β -LG, bovinos criollos, Colombia, globulina, proteínas del suero.

Abstract

The Colombian Creole Cattle has showed a preoccupant population decreasing, from 23,415 individuals in 1999 to 20,102 in 2003. Despite that many efforts to recover the creole breeds have been done, its future conservation is unclear. Searching for economic desirable genes may contribute to its preservation and utilization as a genetic resource. Genes related with the improvement of milk proteins are considered as an economic important factor by the dairy industry. With the aim of characterize beta-lactoglobulin (β -LG) and alpha-lactalbumin (α -LA) genes, 30 samples from each of the creole breeds (Blanco Orejinegro, Caqueteño, Casanareño, Costeño Con Cuernos, Chino Santandereano, Hartón del Valle, Romosinuano and Sanmartinero), two Colombian breeds (Lucerna and Velásquez) and two introduced breeds (Holstein and Brahman) were analyzed. A DNA fragment of 262 pb for β -LG and 166 for α -LA using PCR-SSCP were amplified and analyzed. The average frequencies for β -LG (A) and β -LG

(B) were 0.46 ± 0.020 and 0.53 ± 0.020 , respectively, and 0.35 ± 0.019 for α -LA (A) and 0.64 ± 0.019 for α -LA (B). The genetic diversity (H_e) average for β -LG was 0.498 and 0.455 for α -LA. Creole breeds represent a valuable genetic base as an alternative for breeding and improvement programs in dairy production herds in order to produce milk with desirable characteristics for the dairy industry.

Key words: α -LA, β -LG, Colombia, creole cattle, globulins, whey proteins.

Introducción

Colombia posee varias razas reconocidas como ganado criollo: Romosinuano (RS) y Costeño con cuernos (CCC) en la Costa Atlántica, Blanco Orejinegro (BON) y Chino Santandereano (ChS) en la zona Andina o montañosa, Hartón del Valle (HV) en el valle del río Cauca, Casanareño (CAS) y Sanmartinero (SM) en la Orinoquia, el Caqueteño (CQT) en la Amazonia y dos razas colombianas formadas por cruzamiento con ganado criollo: Velázquez (VEL) = Romosinuano 25%, Brahman Rojo 25% y Red Poll 50% en el departamento de Caldas; y Lucerna (LUC) = Hartón del Valle 30%, Holstein 40% y Shorthorn 30% en el Valle del Cauca. El tamaño poblacional del ganado criollo colombiano pasó de 23.415 individuos en 1999 (Martínez, 1999) a 20,102 en 2003, sin incluir los datos de la raza criolla Casanareño (MADR-Asocriollo, 2003).

La demanda de alimentos de origen animal es cada vez más creciente, por tanto el mejoramiento de los sistemas de producción es una necesidad urgente, entre ellos el de leche bovina. Esta contiene una mezcla compleja de agua, lactosa, grasa, proteínas y otros componentes menores. El 95% del nitrógeno total es proteico y equivale a 35 g de proteína por kg de leche. El 20% de la fracción proteica corresponde a las proteínas del suero β -Lactoglobulina y α -Lactoalbúmina.

La β -Lactoglobulina (β -LG) representa cerca del 50% de las proteínas del suero y el 12 % de la proteína total de la leche de los bovinos (Fox y McSweeney, 1998). En las razas *Bos taurus* las variantes predominantes son: A (Gln 59, Asp64 y Val 118) y B (Gln 59, Gly 64 y Ala 118), no obstante se han identificado y evaluado otras nueve variantes (C, D, E, F, G, H, I, J, W) (Farrell *et al.*, 2004). Las variantes de β -LG son de gran importancia por su asociación con k-caseína, lo que se traduce en un incremento o disminución del total de proteína en la leche (Heck *et al.*, 2009).

El alelo B de β -LG puede ser considerado superior al alelo A por su efecto directo sobre la resistencia mecánica de los geles debido a: (1) la formación de enlaces cruzados y los agregantes implicados en las proteínas del suero y los productos de la hidrólisis del cuajo; (2) un aumento en el tamaño de la micela de caseína causado por la inserción de β -LG B a su superficie; y (3) ambos casos, todo lo cual mejora la proporción de sólidos totales (Meza-Nieto *et al.*, 2007). El alelo A de β -LG está relacionado con una menor proporción de β -LG (Wedholm *et al.*, 2006). El genotipo BB de β -Lactoglobulina (β -LG) se ha asociado con un mayor contenido de grasa, buen rendimiento en queso y un alto porcentaje de caseínas en la leche (Caroli *et al.*, 2004); contrario a lo sugerido para el genotipo AA de β -LG relacionado con una alta producción de leche total (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984).

La α -Lactoalbúmina (α -LA) es una calcio metaloproteína que en las células del epitelio mamario forma un complejo con la β -1,4 galactosil-transferasa, para formar la enzima lactosa sintasa, la cual sintetiza lactosa en el interior de la vesícula secretora del aparato de Golgi. Se han descrito tres variantes (A, B y C), siendo las más comunes A y B. La variante α -LA A posee el aminoácido Gln en la posición 10, mientras que α -LA B tiene una Arginina (Farrell *et al.*, 2004). Se ha evidenciado que las vacas Holstein con la variante A presentan altos valores para producción de leche, proteína y grasa; y las que tienen B muestran alto porcentaje de proteína y grasa (Bleck y Bremel, 1994). Así mismo, se ha constatado una mayor proporción de α -LA con el alelo B y una mayor producción de leche con el alelo A (Heck *et al.*, 2009).

El objetivo principal del presente trabajo fue caracterizar el potencial del ganado criollo colombiano para la producción de leche con características deseables en la industria mediante la estimación de las frecuencias, los parámetros poblacionales y las

diferencias entre los genes de las proteínas β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina en diez razas criollas colombianas.

Materiales y métodos

Se evaluaron 354 muestras de sangre de ocho razas bovinas criollas (30 individuos por raza): Blanco orejinegro (BON), Caqueteño (CQT), Casanareño (CAS), Costeño con cuernos (CCC), Chino Santandereano (ChS), Hartón del Valle (HV), Romosinuano (RS) y Sanmartinero (SM); dos razas colombianas formadas por cruzamientos, Lucerna (LUC) y Velásquez (VEL); y dos razas foráneas, Brahman (n = 24) y Holstein (n = 30), obtenidas en diferentes regiones de Colombia y del Banco de ADN de la Universidad Nacional de Colombia (Cuadro 1).

El ADN fue extraído a partir de 5 ml de sangre mediante el protocolo de extracción 'Salting Out' (Miller *et al.*, 1988). La calidad de ADN fue evaluada en geles de agarosa al 0.8%, corridos en TBE 0.5X (0.045 M trisborato, 0.001 M EDTA, pH 8.0) y teñidos con bromuro de etidio. Se usaron 2 μ l de ADN con 2 μ l de azul de bromofenol (0.25% de azul de bromofenol y 30% de glicerol). Las muestras fueron corridas a 80V durante 45 min usando electroforesis horizontal (cámara BioRad wide mini sub-cell GT). Los geles fueron fotografía-

dos bajo luz ultravioleta usando una cámara digital (Kodak EDAS 290). La cuantificación de ADN se realizó por comparación de ADN con concentraciones conocidas del bacteriófago Lambda.

Para β -LG se amplificó un fragmento de 262 pb (cromosoma 11) con las condiciones descritas por Díaz *et al.* (2006). Se utilizaron 50 ng/ μ l de ADN, se mezclaron con 3 μ l de Tris-HCL (20mM), se desnaturalizaron en un termociclador a 95 °C bajando luego la temperatura a 85 °C, momento en el cual se incluyó la mezcla de PCR que contenía 100 μ M de dNTPs, 0.75 mM de MgCl₂, una unidad (U) de Taq polimerasa y 0.3 μ M de cada cebador (β -LG P3 5' -GTC CTT GTG CTG GAC ACC GAC TAC A-3' y β -LG P4 5'-CAG GAC ACC GGC TCC CGG TAT ATG A-3'). La desnaturalización se realizó a 97 °C y luego a 35 ciclos, constando cada ciclo de 94 °C por 1 min, 60 °C por 1 min y 72 °C por 2 min con una extensión final de 72 °C por 5 min, en un termociclador marca PTC -100TM (MJ Research, Inc-USA).

Para α -LA se amplificó un fragmento de 166 pb localizado en el cromosoma 5, siguiendo las condiciones descritas por Díaz *et al.* (2006). Se tomaron 50 ng/ μ l de ADN y se mezclaron con una solución buffer de PCR con 100 μ M de dNTPs, 0.75 mM de MgCl₂,

Cuadro 1. Tamaño de muestra y sitios de muestreo de razas bovinas criollas, colombianas y foráneas.

Raza	No.	Localización
		municipio (departamento)
Blanco Orejinegro (BON)	30	Popayán (Cauca)
Caqueteño (CQT)	30	Florencia y Morelia (Caquetá)
Casanareño (CAS)	30	Arauca (Arauca)
Costeño con cuernos (CCC)	30	Campeche (Atlántico)
Chino Santandereano (ChS)	30	San Gil y San Alberto (Santander)
Hartón del Valle (HV)	30	Tuluá, Jamundí, Palmira (Valle del Cauca) ^a
Lucerna (LUC)	30	Valle de Cauca
Romosinuano (RS)	30	Sincerín (Bolívar)
Sanmartinero (SM)	30	San Martín (Meta)
Velásquez (VEL)	30	La Dorada (Caldas)
Brahman	24	Jamundí (Valle del Cauca) ^a
Holstein	30	Yotoco, Candelaria (Valle del Cauca) ^a

a. Banco de ADN, Universidad Nacional de Colombia.

una unidad (U) de Taq polimerasa y 0.1 μ M de cada cebador (sentido, 5'-CTC TTC CTG GAT GTA AGG CTT-3' y antisentido, 5'-AGC CTG GGT GGC ATG GAA TA-3'). Las muestras se sometieron a desnaturalización inicial de 2 min. Se realizaron 35 ciclos y se constató cada ciclo de 95 °C por 1 min, 55 °C por 1 min y 72 °C por 1 min y una extensión final de 72 °C por 5 min.

Los alelos se identificaron mediante PCR-SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism). Se mezclaron 2 μ l de los productos de PCR con 8 μ l de buffer desnaturalizante (0.05% de Xilene-Cianol, 0.05% de azul bromofenol, 5.5 mM de EDTA pH 8.0). Se desnaturalizaron a 95 °C por 5 min y luego se enfriaron en hielo por dos minutos. Como controles se utilizaron muestras de individuos AA, AB y BB, genotipificadas mediante RFLP por Díaz *et al* (2006). Se cargaron en geles de poliacrilamida (Cámara Biometra® 12 x 8 cm) (relación de acrilamida: N,N'-metilene-bis-acrilamida 100:1) a 14 % y 16 % para β -LG y α -LA, respectivamente, glicerol al 3.7 % con TBE 0.5 X (0.045 M tris-borato, 0.001 M EDTA, pH 8.0). Para la electroforesis se uso buffer TBE 0.5 X para α -LA y 1X para β -LG. Los geles se corrieron a 160 v por 10 h para β -LG y a 180 v por 4 h para α -LA, a una temperatura constante de 12 °C.

Se estimaron las frecuencias alélicas, las heterocigosidades observada (H_o) y esperada (H_e), el coeficiente de fijación (F_{IS}), el equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) y el coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}), mediante el programa Arlequín (Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis) versión 3.1 (Excoffier *et al.*, 2006).

Resultados y discusión

La PCR-SSCP permitió detectar dos patrones de bandas para α -LA y β -LG (Foto 1). Las frecuencias alélicas de los genes β -LG y α -LA en las diferentes razas criollas y foráneas aparecen en el Cuadro 2. Mediante la técnica molecular PCR-SSCP únicamente fueron encontradas las variantes A y B de β -LG. La frecuencia para β -LG B (0.53 ± 0.02) resultó mayor que para β -LG A (0.46 ± 0.02). La variante de interés β -LG B –que mejora la proporción de sólidos totales (Meza-Nieto *et al.*, 2007)– fue encontrada en alta frecuencia en las razas CQT, LUC, HV y ChS y en menor proporción en las razas criollas BON, CAS, SM y VEL. La frecuencia promedio del alelo β -LG B para los criollos fue superior a la hallada en Holstein.

Al igual que en este estudio, en la mayoría de razas criollas de América tropical se ha

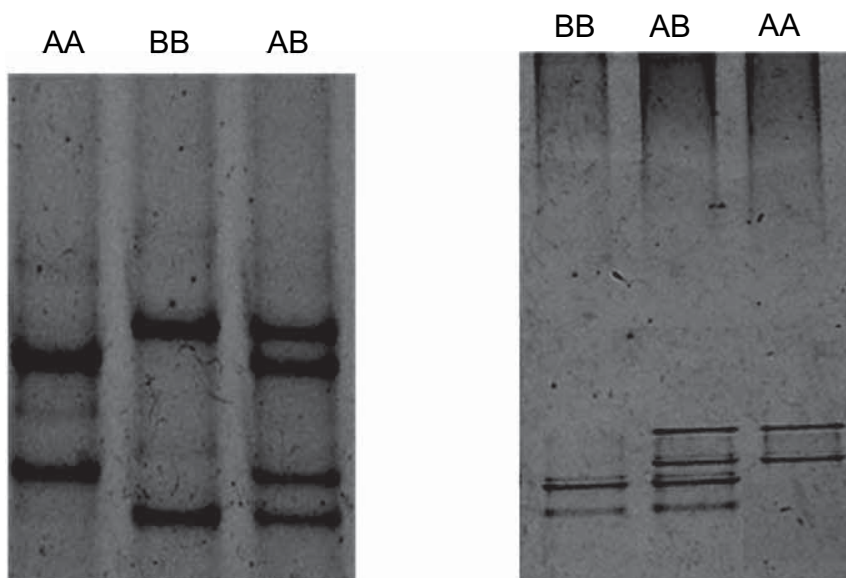


Foto 1. Patrones de corrida para dos variantes alélicas de una región de los genes β -LG (izquierda) y α -LA (derecha), mediante PCR-SSCP.

Cuadro 2. Frecuencias génicas y desviaciones estándar de las variantes alélicas de β -LG y α -LA en razas criollas colombianas y en dos foráneas.

Raza	β -LG		α -LA	
	A	B	A	B
BON	0.51±0.065	0.48±0.065	0.55±0.065	0.45±0.064
CQT	0.28±0.058	0.71±0.058	0.50±0.065	0.50 ±0.065
CAS	0.65± 0.062	0.31± 0.060	0.33±0.061	0.66±0.061
ChS	0.36±0.062	0.63±0.062	0.31±0.060	0.68 ±0.062
CCC	0.46±0.064	0.53±0.064	0.30±0.059	0.70±0.059
HV	0.31±0.060	0.65±0.062	0.15±0.035	0.85±0.046
LUC	0.35±0.062	0.65±0.062	0.21±0.053	0.78±0.053
RS	0.43±0.064	0.56 ±0.064	0.30±0.059	0.70±0.059
SM	0.63±0.062	0.36±0.062	0.43±0.064	0.56±0.064
VEL	0.63±0.062	0.36±0.062	0.43±0.064	0.56±0.064
Promedio	0.46±0.020	0.53±0.020	0.35± 0.019	0.64±0.019
Brahman	0.28±0.069	0.67±0.069	0.00±0.00	1.0± 0.0
Holstein	0.60±0.063	0.40±0.063	0.53 ± 0.064	0.46±0.064

hallado una mayor frecuencia para el alelo de interés β -LG B que para β -LG A (Postiglioni *et ál.*, 2002; Lirón *et ál.*, 2002; Poli *et ál.*, 2002; Rincón *et ál.*, 2006). Las estimaciones de frecuencia halladas para el ganado criollo colombiano también resultaron dentro del rango descrito para otras razas comerciales de EE.UU. (Van-Eennaam y Medrano, 1991), italianas (Caroli *et ál.*, 2004), griegas (Tsiaras *et ál.*, 2005) y portuguesas (Beja-Pereira *et ál.*, 2002). Una mayor frecuencia del alelo β -LG B es deseable ya que este se correlaciona con una mejor calidad de proteína en la leche y mejora la formación de agregados en procesos del cuajo a nivel industrial (Meza-Nieto *et ál.*, 2007). La alta proporción de la variante de interés β -LG B encontrada en las razas criollas, representa una alternativa de uso en los sistemas doble propósito dirigidos hacia la producción de queso, en virtud que el alelo B de la β -LG ha sido asociado con mayor contenido de grasa y caseína en la leche.

El alelo β -LG A encontrado en alta frecuencia en las razas colombianas CAS, VEL, SM y BON resultó similar a lo reportado para la raza brasilera Caracú (0.57) (Kemenes *et ál.*, 1999) y la comercial Holstein (0.58) (Heck *et ál.*, 2009).

Para α -LA se encontró mayor frecuencia de la variante α -LA B (0.64 ± 0.01) que en α -LA

A (0.35 ± 0.01). El alelo de interés α -LA B se halló en alta frecuencia en todas las razas, excepto en BON y CQT. La α -Lactoalbúmina (α -LA) se considera importante por formar parte del complejo β -1,4 galactosil-transferasa, responsable de la formación de la enzima lactosa sintasa, la cual sintetiza lactosa. Bleck y Bremel (1994) evidenciaron que las vacas Holstein con la variante A presentaron mayores niveles de producción de leche y proteína, en comparación con el alelo B que sólo mostró un aumento en el porcentaje de proteína y grasa. El gen α -LA no ha sido utilizado ampliamente para evaluar razas criollas o comerciales en América, como sucede con el gen k-caseína (k-CN) o β -LG. Este hallazgo es el primero en mostrar la frecuencia para el gen α -LA en razas criollas de Colombia. La mayor frecuencia del alelo B de α -LA encontrada en la mayoría de las razas criollas colombianas coincide con lo hallado en las razas criollas de Uruguay (Postiglioni *et ál.*, 2002; Rincón *et ál.*, 2006) y la criolla colombiana Hartón del Valle (Díaz *et ál.*, 2006) siendo superior a lo reportado en las criollas Cubana y Siboney (Uffo *et ál.*, 2006), aunque Uffo *et ál.* (2006) sugieren la presencia del alelo A de α -LA como indicador de introgresión con razas cebuinas (*Bos indicus*). En este estudio se halló el alelo A en todas las razas de ganado criollo

colombiano y en Holstein; sin embargo, de manera excepcional este alelo no se detectó en Brahman.

Las estimaciones de heterocigosidad esperada (He), la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) y los valores del coeficiente de fijación (F_{IS}) se observan en el Cuadro 3. En el ganado criollo los valores de diversidad genética (He) para β-LG variaron entre 0.41 a 0.50, con un valor promedio de 0.49. Las razas BON y CCC mostraron los valores más altos de diversidad genética. No se encontró EHW en las razas CQT, ChS, HV y LUC. El F_{IS} únicamente resultó significativo para LUC. Para α-LA el valor de He varió entre 0.16 y 0.5, con un promedio de 0.45. Los valores más altos de He fueron hallados en las BON, CQT, SM y VEL. No se encontró EHW en BON, CQT, RS ni en Holstein, y el índice de fijación fue significativo en LUC y RS (Cuadro 3). El índice de diferenciación genética resultó altamente significativo entre las diferentes razas usadas en este estudio (F_{ST} = 0.077; P < 0.01).

Las determinaciones de He (0.498 ± 0.02) para β-LG en el ganado criollo colombiano, resultaron en el rango descrito para las razas

criollas de Suramérica (0.267 - 0.508) (Lirón *et ál.*, 2002; Rincón *et ál.*, 2006), para las razas portuguesas (0.27 - 0.5) (Beja-Pereira *et ál.*, 2002), y para la colombiana Hartón del Valle (Díaz *et ál.*, 2006). Las desviaciones del EHW en las razas criollas CQT y ChS pueden estar asociadas con el reducido tamaño poblacional existente y a la preferencia por ciertos machos reproductores que permanecen dentro del hato por varias generaciones.

El valor promedio de He obtenido para el gen de α-LA en el ganado criollo colombiano y los altos valores de He alcanzados en la mayoría de estas razas, superaron los hallados por Díaz *et ál.* (2006). Las desviaciones en EHW halladas en la raza criolla CQT podrían estar relacionadas con un bajo número de efectivos en esta raza; mientras que en las criollas BON y RS posiblemente tengan más relación con un exceso o deficiencia de heterocigotos, en tanto que en la raza Holstein posiblemente se deben a la presión de selección. No obstante que en algunas razas criollas se halló EHW para los genes β-LG y α-LA, no es posible asegurar la estabilidad de frecuencia en los alelos, puesto que en algunas razas se tiene

Cuadro 3. Valores estimados de heterocigosidad esperada (He) e índice de fijación (F_{IS}) para β-LG y α-LA en ganado criollo colombiano y foráneo (Holstein y Brahman).

Raza	He		F _{IS}	
	β-LG	α-LA	β-LG	α-LA
BON	0.507	0.50**	-0.25	-0.812
CQT	0.413*	0.50**	0.43	-1.0
CAS	0.448	0.452	0.15	0.265
CCC	0.506	0.427	0.21	0.06
ChS	0.472*	0.448	0.58	-0.31
HV	0.448*	0.165	0.46	-0.08
LUC	0.462*	0.345	0.50*	0.32*
RS	0.499	0.427*	0.33	0.69*
SM	0.472	0.499	0.29	0.201
VEL	0.472	0.499	0.24	0.066
Promedio	0.498**	0.455	0.33	-0.019
Brahman	0.426*	0.000	0.69	
Holstein	0.481	0.506**	0.04	-0.87

F_{ST} 0.077 (P < 0.01).

EHW según la prueba exacta utilizada por el paquete estadístico Arlequín 3.1 (Excoffier *et ál.*, 2006) usando la cadena markoviana con longitud pronosticada = 100000; No. de dememorizaciones = 1000.

* Probabilidad estadísticamente significativa (P < 0.05) de que no hay EHW en cada raza.

** Probabilidad altamente significativa (P < 0.01) de que no hay EHW en cada raza.

bajo número de efectivos, lo que ocasionaría error en el muestreo, tal como lo sostiene Caujapé-Castells (2006).

El presente estudio demuestra que la alta diversidad genética está soportada no sólo por la presencia de al menos dos alelos en los genes evaluados, sino también por los altos valores de He encontrados en la mayoría de razas de ganado criollo colombiano, pese a las reducidas poblaciones y al limitado número de machos reproductores, lo que llevaría a incrementar los niveles de endogamia.

El valor de diferenciación genética ($F_{ST} = 0.077$) en el ganado criollo colombiano reafirma la importancia de la evaluación de las razas locales, siendo este parámetro útil para la conservación y manejo de los recursos zoogenéticos, ya que generan un indicio del origen o la magnitud de diferenciación genética entre ellas.

Conclusiones

- La alta frecuencia para el alelo B en β -LG y α -LA demuestra el valor del ganado criollo colombiano para la producción de leche con características deseables en la industria. Los altos valores de diversidad genética indican que el ganado criollo colombiano constituye un recurso que alberga una amplia diversidad genética en cuanto a proteínas de la leche.
- Las razas criollas CQT, ChS, HV y LUC son candidatas potenciales para ser usadas en programas de mejora genética, con el objetivo de elevar los niveles de calidad de la leche.

Agradecimientos

A la Dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia-Palmira DIPAL por la financiación (Proyecto 20101100727). A los criadores de ganado criollo colombiano Marino Valderrama y Eduaime Cárdenas (Hartón del Valle), Juan Manuel González y Julia Arias (BON), Rafael Torrijos y Francisco Ramón (CQT), Germán Martínez (SM), Luis Fernando Cala (ChS), Arturo Cabrera (CCC), Rodrigo Salas (ROMO), José Antonio Velásquez (VEL), Pablo Canay y Arcesio Salamanca (CAS).

Referencias

- Beja-Pereira, A.; Erhardt, G.; Matos, C.; Gama, L.; y Ferrand, N. 2002. Evidence for a geographical cline of casein haplotypes in portuguese cattle breeds. *Anim. Gen.* 33: 295 - 300.
- Bleck, G. T. y Bremel, R. D. 1994. Variation in expression of a bovine α -lactalbumin transgene in milk of transgenic mice. *J. Dairy Sci.* 77(7):1897 - 1904.
- Caroli, A.; Chessa, S.; Bolla, P.; Budelli, E.; y Gandini, G. C. 2004. Genetic structure of milk protein polymorphism and effects on milk production traits in local dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 121(2):119 - 127.
- Caujapé-Castells, J. 2006. Brújula para botánicos desorientados en la genética de poblaciones. Exegen Ediciones. Las Palmas de Gran Canaria. España. 132 p.
- Díaz, H. A.; Alvarez, L. A.; Muñoz J. E.; Posso A.; y Sanabria, H. L. 2006. Genetic variability of milk proteins (k-Casein, B-Lactoglobulin and α -Lactalbumin) in Hartón Del Valle Creole cattle. Proceedings of the 30th International Conference on Animal Genetics. Porto Seguro, Brazil. Belo Horizonte, Brazil: CBRA, ISBN 85-85584-03-3 (CD); 85-85584-02-5 (site www.cbra.org.br).
- Excoffier, L.; Laval, G.; y Schneider, S. 2006. Arlequin ver 3.1: An Integrated software package for population genetics data analysis. Manual Arlequin. 145 p.
- Farrell, H. M. Jr.; Jimenez-Flores, R.; Bleck, G. T.; Brown, E. M.; Butler, J. E.; Creamer, L. K.; Hicks, C. L.; Hollar, C. M.; Ng-Kwai-Hang, K. F.; y Swaisgood, H. E. 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk. Sixth revision. *J Dairy Sci.* 87 (6):1641 - 1674.
- Fox, P. F. y McSweeney, P. L. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Londres. Blackie Academic & Professional. 478 p.
- Heck, J. M. L.; Schennink, A.; van Valenberg, H. J. F.; Bovenhuis H.; Visker, M. H. P. W.; van Arendonk, J. A. M.; y van Hooijdonk, A. C. M. 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *J Dairy Sci.* 92(3):1192 - 1202.
- Kemenes, P. A.; De Almeida Regitano, L. C.; De Magalhaes Rosa, A. J.; Packer, I. U.; Razook, A. G.; Andrade de Figueiredo, L.; Silva, N. A.; Etcheagaray, M. A. L.; y Lehmann Coutinho, L. 1999. κ -casein; β -lactoglobulin and growth hormone allele frequencies and genetic distance in Nelore, Gyr, Guzerá, Caracu, Charolais, Canchim and Santa Gertrudis Cattle. *Genet. Mol. Biol.* 22(4):539 - 541.
- Lirón, J. P.; Ripoli, M. V.; De Luca, J. C.; Peral-García, P.; y Giovambattista, G. 2002. Analysis

- of genetic diversity and population structure in Argentine and Bolivian creole cattle using five loci related to milk production. *Genet. Mol. Biol.* 25(4):413 - 419.
- MADR-Asocriollo. 2003. Población por grupos raciales. En: Razas criollas y colombianas puras. MADR y Asocriollo (Asociación de Criadores de Ganado Criollo y Colombiano). Memoria Convenio 135-01.
- Martínez, G. 1999. Memorias del Seminario: Censo y Caracterización de los Sistemas de Producción del Ganado Criollo y Colombiano. Fedegan, ICA, Pronatta y Asobon. Santafé de Bogotá. 158 p.
- Meza-Nieto, M. A.; Vallejo-Cordoba, B.; González-Córdova, A. F.; Félix, L.; y Goycochea, F. M. 2007. Effect of β -lactoglobulin A and B whey protein variants on the rennet-induced gelation of skim milk gels in a model reconstituted skim milk system. *J Dairy Sci.* 90(2):582 - 593.
- Miller, S. A.; Dykes, D. D.; y Polesky, H. F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids. Res.* 16(3):1215.
- Ng-Kwai-Hang, K. F.; Hayes J. F.; Moxley J. E., y Monardes H.G. 1984. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 67:835-840.
- Poli, M. A.; Holgado, F.; y Rabasa, A. E. 2002. Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes de caseína k y la lactoglobulina B en un rodeo de bovinos criollos en Argentina. En: III Simposio Iberoamericano sobre la conservación de los recursos zoogenéticos locales y el desarrollo rural, 25-27 nov, 2002. Montevideo, Uruguay, UDELAR. Pp. 12.
- Postiglioni, A.; Rincón, G.; Kelly, L.; Llambí S.; Fernández, G.; D'Angelo, M.; Gagliardi, G.; Trujillo, J.; de Bethencourt, M.; Guevara, K.; Castellano, A.; y Arruga, M. V. 2002. Biodiversidad genética en bovinos criollos del Uruguay. Análisis con marcadores moleculares. *Arch. Zootec.* 51: 195-202.
- Rincón, G.; Armstrong, E.; y Postiglioni, A. 2006. Analysis of the population structure of Uruguayan Creole cattle as inferred from milk major gene polymorphisms. *Genet. Mol. Biol.* 29 (3): 491-495.
- Tsiaras, A. M.; Bargouli, G. G.; Banos, G.; y Boscos C. M. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88 (1): 327-334.
- Uffo, O.; Martín-Burriel, I.; Martínez, S.; Ronda, R.; Osta, R.; Rodellar, C.; y Zaragoza, P. 2006. Caracterización genética de seis proteínas lácteas en tres razas bovinas cubanas. *Animal Genetic Resources Information* 39: 15-24.
- Van-Eennaam, A.; Medrano, J. F. 1991. Milk protein polymorphisms in California Dairy Cattle. *J Dairy Sci.* 74 (5): 1730-1742.
- Wedholm, A.; Larsen, L. B.; Lindmark-Månsson, H.; Karlsson, A. H.; y Andrén, A. 2006. Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *J Dairy Sci.* 89 (9): 3296-3305.