

# Polimorfismo del gen de la Somatotropina Bovina y su asociación con características de importancia en la producción lechera\*

José Julián Echeverri Zuluaga\*\*, Neil Aldrin Vázquez Araque\*\*\*, Yuliana Marcela Gallo García\*\*\*\*

## Resumen

**Introducción.** actualmente se han descrito polimorfismos genéticos en algunos genes relacionados con la producción y calidad de la leche como kappa-caseína, beta-lactoglobulina, Prolactina y Hormona de crecimiento. Una de las hormonas de mayor importancia en los procesos de secreción y composición de la leche es la hormona de crecimiento (bGH). Entre los sitios polimórficos para el gen de la bGH está uno en la posición 1547 (intrón 3), en el cual el alelo GH<sup>+</sup> presenta una citosina (C) y el alelo GH<sup>-</sup> presenta una timina (T). **Objetivo.** determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen de la hormona del crecimiento bovino y la asociación entre los polimorfismos de este gen con algunas características como producción y composición de la leche en ocho hatos ubicados en el Departamento de Antioquia. **Metodología.** Se analizaron 70 lactancias correspondientes a 165 individuos de raza Holstein. La determinación de los genotipos se realizó mediante la técnica de PCR asociada a RFLP. **Resultados.** El alelo más frecuentes en la población en estudio para bGH fue bGH+(0.85). Mientras el genotipo más frecuente para el gen bGH fue +/(0.72), el de menor frecuencia fue el bGH-/(0.03). Se presentaron diferencias entre las medias para producción de leche, grasa y proteína entre los tres genotipos, pero no fueron estadísticamente significativas.

**Palabras clave:** Polimorfismo, hormona del crecimiento, producción de leche, composición de la leche, raza Holstein

## Polymorphism of the bovine somatotropin and its association to the most important characteristics of dairy industry

### Abstract

**Introduction.** At the moment, genetic polymorphisms in some genes related to the production and quality of milk have been described. Examples of them are kappa-casein, beta-lactoglobulin, prolactin and growth hormone. One of the most important hormones in the milk's secretion and composition processes is the growth hormone (bGH). Among the polymorphic sites for the bGH gene, there is one at the 1547 position (intron 3) in which the GH<sup>+</sup> allele has a cytosin (C) and the GH<sup>-</sup> allele has a thymine (T). **Objective.** To determine the allelic and genotypic frequencies of the bovine growth hormone's gene and the association between the polymorphisms of this gene with some characteristics such as production and composition of milk in eight herds located in the Antioquia province. **Methodology.** 470 lactations, corresponding to 165 Holstein race individuals, were analyzed. The genotypes were determined by the use of the PCR technique, associated with RFLP. **Results.** The most frequent allele in the studied population for bGH was bGH+(0.85) and, while the most frequent genotype for the bGH gene was +/(0.72), the less frequent was bGH-/(0.03). There were differences between the milk, fat and protein production averages among the three genotypes, but they were not statistically significant.

**Keywords:** Polymorphism, growth hormone, milk production, milk composition, Holstein race.

\* Artículo derivado de la investigación "Asociación de algunos polimorfismos genéticos con características de importancia económica para la Producción lechera", realizada en 2007— con financiación de la cooperativa COLANTA

\*\* Profesor auxiliar, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Grupo BIOGEM

\*\*\* Profesor asistente, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín

\*\*\*\* Ingeniera Biológica, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín

Correspondencia: José Julián Echeverri Zuluaga, e-mail: jjecheve@unal.edu.co  
Artículo recibido: 06/06/2009; artículo aprobado: 05/04/2010

## Polimorfismo do gene da Somatotrópica Bovina e sua associação com características de importância na produção leiteira

### Resumo

**Introdução.** atualmente se descreveram polimorfismos genéticos em alguns genes relacionados com a produção e qualidade do leite como kappa-caseína, beta-lactoglobulina, Prolactina e Hormônio de crescimento. Uma dos hormônios de maior importância nos processos de secreção e composição do leite é o hormônio de crescimento (bGH). Entre os lugares polimórficos para o gene da bGH está um na posição 1547 (intrón 3), no qual o alelo GH<sup>+</sup> apresenta uma citosina (C) e o alelo GH<sup>-</sup> apresenta uma timina (T). **Objetivo.** determinar as frequências alélicas e genotípicas do gene do hormônio do crescimento bovino e a associação entre os polimorfismos deste

gene com algumas características como produção e composição do leite em oito farnéis localizados no Departamento de Antioquia. **Metodologia.** Analisaram-se 70 lactâncias correspondentes a 165 indivíduos de raça Holstein. A determinação dos genótipos se realizou mediante a técnica de PCR sócia a RFLP. **Resultados.** O alelo mais frequentes na população em estudo para bGH foi bGH<sup>+</sup>(0.85). Enquanto o genótipo mais frequente para o gene bGH foi +/+(0.72), o de menor frequência foi o bGH<sup>-</sup>(0.03). Apresentaram-se diferenças entre as médias para produção de leite, gordurosa e proteína entre os três genótipos, mas não foram estatisticamente significativas.

**Palavras importantes:** Polimorfismo, hormônio do crescimento, produção de leite, composição do leite, raça Holstein.

---

## Introducción

Desde la aparición de la ganadería como actividad económica el ganado lechero se ha visto sometido a selección fenotípica, tendiente a mantener los caracteres de mayor producción. Esta selección se ha enfocado en mejorar los volúmenes de producción, dejando de lado la calidad composicional de la leche y causando una materia prima con bajo rendimiento para la industrialización.

Las principales limitantes de la selección fenotípica son: 1. el tiempo que se requiere para determinar las características de la progenie y el impacto de las habilidades predichas de transmisión (PTA, por sus siglas en inglés) de los toros, y 2, los caracteres seleccionados pueden ser en ocasiones ambiguos, debido al impacto de las influencias ambientales y fisiológicas que los afectan<sup>1</sup>.

Entre las características fenotípicas de mayor importancia en ganado lechero están la producción de la leche y la calidad composicional de la misma. Estas características no dependen de la acción de una hormona en particular. Por el contrario, una cascada de eventos que ocurre en el sistema endocrino durante el tercer semestre de la gestación prepara la glándula mamaria para la producción y secreción de la leche. Una de las hormonas de mayor importancia en estos procesos, es la hormona del crecimiento<sup>2,3</sup>.

El gen de la hormona del crecimiento bovina (bGH) tiene 1800bp con 5 exones y 4 intrones, localizado en el cromosoma 19 (19q26)<sup>4</sup>. Esta hormona de 22 kDa, compuesta por 191 aminoácidos, es producida por la glándula pituitaria y desempeña una importante función en la lactancia y procesos de crecimiento<sup>5</sup>.

La bGH es liberada a la circulación y tiene un efecto directo sobre el hígado, en donde estimula la producción del factor de crecimiento insulinoide (IGF-1), que actúa sobre el tejido glandular mamario durante la lactancia. Además se ha establecido que los niveles circulantes de bGH en vacas lactantes son mayores en las vacas que tienen una alta producción de leche. Estos hallazgos condujeron al suministro de bGH exógena para aumentar la producción de leche<sup>6</sup>.

La hormona del crecimiento cumple diversas funciones. Por esta razón se han buscado secuencias polimórficas en los genes que codifican dichas proteínas con el uso de técnicas moleculares, que permiten detectar variaciones o polimorfismos existentes en los individuos para regiones específicas del DNA, con el fin de utilizarlos para construir mapas genéticos y evaluar su efecto sobre la expresión de características específicas<sup>7</sup>, permitiendo predecir el valor de un animal asociado con los rasgos de interés<sup>8</sup>. Entre los sitios polimórficos para el gen de la bGH, uno de los más representativos es el polimorfismo en la posición 1547 (intrón 3), en donde el alelo GH<sup>+</sup> presenta una citosina

(C) y el alelo GH<sup>-</sup> presenta una timina (T)<sup>9</sup>. De esta manera se han descrito genotipos asociados con producción y composición láctea, siendo el genotipo bGH +/+ el más favorable para la producción de leche<sup>10,11</sup>.

Debido al interés de iniciar estudios de mejora genética por medio de la selección de individuos asistida por marcadores (MAS), el objetivo principal de este trabajo fue determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen de la hormona del crecimiento bovina, así como explorar la asociación entre los polimorfismos de estos genes y algunas características productivas como producción y composición de la leche en ocho fincas ubicadas en diferentes Municipios del departamento de Antioquia,

## Materiales y métodos

### Extracción de DNA a partir de sangre periférica.

Se seleccionaron 165 ejemplares de una población de ganado productor de leche en ocho hatos del departamento de Antioquia. De cada uno de los individuos se colectaron 5 ml de sangre periférica para la extracción de DNA, la cual se realizó mediante el método descrito por Miller y colaboradores<sup>12</sup> con algunas modificaciones. Se realizó una amplificación por PCR individual para cada región específica en un volumen final de 50 µL. Los cebadores utilizados para la amplificar las regiones específicas de los genes de bGH (1443 a 1769 Acceso M57764)<sup>13</sup> que contenían los polimorfismos fueron descritos por Dybus<sup>14</sup> y son los siguientes: F 5' - CCCACGGGCAAGAATGAGGC-3' y R 5' TGAGGAAGTGCAGGGGCCCA-3'.

Para la determinación de los alelos de los genes de bGH, se tomaron 13µl del producto de la PCR y se sometieron a digestión con 5 unidades de la enzima de restricción *MspI*, incubándose a 37°C durante 12 horas. Los productos de la amplificación y digestión se resolvieron por electroforesis en geles de agarosa al 4% (Amresco®).

De los 165 individuos genotipificados se analizaron las lactancias completas y para el análisis de porcentaje de grasa y proteína se selec-

cionaron únicamente las lactancias dentro de las cuales se tuvieron mínimo cuatro muestras para análisis composicional. Esto dio como resultado un diferente tamaño muestral para cada característica.

## Análisis estadístico

La frecuencia de los diferentes alelos se realizó con el método descrito por Hartl<sup>15</sup>. Frecuencia total (p) de los alelos 1 en la población es:

$$p = Fa/a + \frac{1}{2} Fa/b$$

Frecuencia total (q) de los alelos 2 en la población es:

$$q = Fb/b + \frac{1}{2} Fa/b, \text{ donde;}$$

F a/a = Homocigótico.

F a/b = Heterocigótico.

Se realizó un análisis de varianza basado en las fuentes de variación conocidas para cada una de las variables dependientes (producción de leche, porcentaje de grasa y porcentaje de proteína).

El modelo de efectos fijos llevado a cabo fue el siguiente:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + G_i + G_{p_m} + H_j + NP_l + G^*G_p + E_{ijklmnop}$$

Donde:

$Y_{ijklmnop}$  = Característica analizada (producción láctea, porcentaje de proteína, porcentaje de grasa).

$\mu$  = Media para la característica.

$H_j$  = Efecto del hato (j = 1...8).

$NP_l$  = Efecto del número de parto (l = 1...8).

$G_i$  = Efecto fijo del genotipo para GH (i = 1...3).

$G_{p_m}$  = Efecto fijo del genotipo para PRLGH (i = 1...3).

$G_i, G_{p_m}$  = Efecto de la Interacción entre genotipos.

$E_{ijklmp}$  = Error experimental.

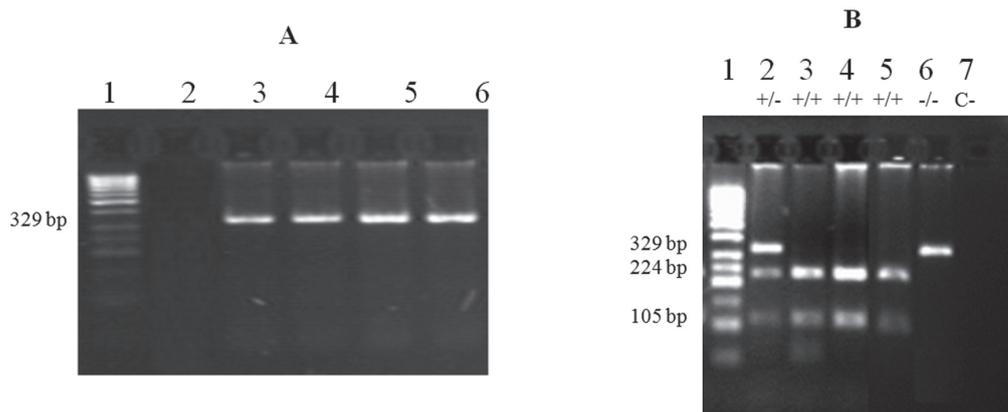
Los factores de corrección para los efectos medioambientales se estimaron mediante la utilización de el método de mínimos cuadrados descrito por Harvey, y los análisis estadísticos restantes con procedimientos del paquete estadístico Stat Graphics plus ver. 4.0. Las Medias ajustadas se utilizaron como base para comparar los genotipos.

## Resultados

### Alelos para bGH obtenidos por PCR-RFLP

El fragmento amplificado del gen bGH fue de 329 pb (figura 1A), el cual fue sometido a digestión con la enzima MspI para la determinación de los genotipos. Los fragmentos de restricción

de DNA específicos para cada genotipo fueron: 224 y 105 pb para el genotipo +/+; 329, 224 y 105 para el genotipo +/- y 329 pb (no digerido) para el genotipo -/- (figura 1B).



**Figura 1 (A).** Amplificación del gen de bGH a partir de sangre bovina. Electroforesis en gel de agarosa al 4%. La figura presenta el fragmento amplificado de 329bp, correspondiente al gen de bGH en algunos de los individuos evaluados (carriles 3, 4, 5 y 6), y el carril 2 control negativo. El carril 1 fue un marcador de peso molecular de 50bp. **(B)** Genotipificación de bGH electroforesis en gel de agarosa al 4%. El carril numero 1 corresponde a marcador de peso molecular de 50 pb. El carril 2 presenta bandas de 329pb, 224pb y 105 pb correspondientes a los fragmentos de restricción generados por digestión con MspI para el genotipo bGH+/- . Los carriles 3, 4 y 5 exhiben bandas de 224 pb y 105 pb, que corresponden al genotipo bGH+/. El carril 6 muestra el fragmento de 329 pb correspondiente al genotipo bGH -/-, carril 7 control negativo

### Frecuencias alélicas y genotípicas

No hubo diferencia significativa entre las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas en los diferentes hatos en el análisis realizado mediante la prueba de comparación de proporciones de Chi cuadrado con un 95 % de confianza. Esto significa que, a pesar de los diferentes orígenes genéticos de los hatos en evaluación, la base de la población lechera de los hatos en estudio es muy similar o por lo menos está conformada por individuos que han sido seleccionados con los mismos objetivos productivos.

Las frecuencias alélicas obtenidas en este estudio fueron de 0.85 para el alelo bGH+ y de

0.15 para el alelo bGH- (tabla 1). El genotipo bGH+/+ fue el más frecuente en todos los hatos estudiados (0.46–0.9), excepto en el hato 7 que tuvo una frecuencia de 0.38, seguido por el bGH+/- (0.06–0.38). El de menor frecuencia fue bGH-/- (0.0 – 0.13) (tabla 2). Este último fue hallado en 5 de los hatos estudiados.

Los 8 hatos evaluados presentaron diferencias en la frecuencia de los genotipos para bGH, siendo de (0.38 – 0.9) para el genotipo bGH+/+, (0.1 - 0.62) para el genotipo bGH+/- y de (0 - 0.13) para el genotipo bGH-/- (tabla 2). Esta diferencia no fue significativa a la prueba de comparaciones de proporciones de Chi cuadrado con un nivel de confiabilidad de 95 %.

**TABLA 1. Frecuencia alélica del gen bGH.**

GEN	Alelo	Frecuencia
bGH	bGH +	0.85
	bGH -	0.15

**TABLA 2. Frecuencias Genotípicas para el gen de bGH en los hatos evaluados**

GEN	GENOTIPOS	GENERAL			HW	1			HW
		nt	ni	F		nt	ni	F	
GH	(+/+)		108	0,724	1,56	20	18	0,9	
	(+/-)		36	0,241			2	0,1	
	(-/-)	149	5	0,033		0	0		
	(+)			0,845				0,93	
	(-)			0,154				0,08	

2			HW	3			HW	4			HW
nt	ni	F		nt	ni	F		nt	ni	F	
15	11	0,733	0,91	16	14	0,875	0,27	21	15	0,714	
	3	0,2			1	0,062			6	0,285	
	1	0,066		1	0,062						
			0,78			0,89				0,79	
		0,22			0,11				0,21		

5			HW	6			HW	7			HW	8			HW
nt	ni	F		nt	ni	F		nt	ni	F		nt	ni	F	
19	16	0,842	13	6	0,461	1,55	13	5	0,384	32	23	0,718	1	0,055	1,26
	3	0,157		5	0,384			8	0,615		8	0,25			
			2	0,133											
			0,88		0,56			0,54			0,78				
		0,12		0,44			0,46			0,22					

nt: Tamaño total de la muestra  
ni: Número de individuos para cada genotipo  
F: Frecuencia genotípica.  
HW: Valor de Hardy Weinberg

En la tabla se observa la distribución de los alelos y genotipos en cada uno de los hatos. Ninguno de dichos hatos mostró equilibrio de Hardy Weinberg, e igual sucedió con la población total. La fórmula de equilibrio estuvo en algunos casos por debajo y en otros por encima de 2, lo que indica que estas poblaciones han estado sometidas a selección y que ha habido una pérdida de la heterocigocidad.

**Efecto del genotipo de bGH sobre las características productivas**

De acuerdo con el análisis realizado, las vacas con genotipo bGH (-/-) produjeron 262 lts. de leche más por lactancia que las vacas bGH +/- . De la misma forma los individuos bGH +/- fueron superiores en 149 lts a los bGH +/- que presentaron el menor rendimiento (tabla 3). La

cantidad de leche producida por las vacas que presentaron el genotipo de mayor desempeño para esta característica tiene un costo aproximado en el mercado de \$180.000 a precios actuales, lo cual incrementaría los ingresos de los productores en esta cantidad por cada lactancia terminada en un año. Los individuos con genotipo bGH +/+ y bGH +/- produjeron leche con 0.08% y 0.07% más de proteína, respectivamente, que los homocigóticos bGH -/-. Este incremento en proteína representa para el productor de leche un incremento de 2.5% en el precio de venta de la leche a las industrializadoras, lo que se traduce en una utilidad adicional de \$75.000 por lactancia de 5000 litros. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa (tabla 3).

Los individuos con genotipo bGH +/+ y bGH +/- produjeron 15 y 14 Kg de proteína más por lactancia, respectivamente, con respecto a los homocigóticos bGH -/-. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa (tabla 3). El porcentaje de grasa de la leche fue superior en los individuos GH +/- (+0.1 %) con respecto a GH -/- y GH +/+, quienes produjeron leche con

menor concentración de grasa (tabla 3). Este incremento en porcentaje de grasa podría representar un ingreso adicional de 0.6% en el precio de venta de la leche producida, lo que implicaría una utilidad adicional de \$19.500 por lactancia. Los individuos con genotipo bGH -/- y bGH +/- produjeron 47 y 2 Kg de grasa más por lactancia, respectivamente, con respecto a los homocigóticos bGH +/+. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa (tabla 3).

Los resultados presentados anteriormente indican que no existe un genotipo para el gen de la hormona del crecimiento bovina bGH que sea superior en la totalidad de las características. El productor debe orientar la genética de su hato a individuos que tengan capacidad de producir leche con altos contenidos de sólidos representados en buenos porcentajes de proteína y grasa. La baja frecuencia de algunos de los genotipos no permite efectuar una comparación cuyos resultados sean de alta significancia, por lo tanto se debe aumentar el tamaño muestral en busca de más individuos con los genotipos de baja frecuencia que permitan confirmar los resultados de esta investigación.

**TABLA 3. Asociación entre los genotipos de bGH y PRL y producción y composición de la leche**

GEN	GENOTIPO	N	P. LECHE	n	% PROTEINA	n	% GRASA	n	Kg PROTEINA	n	Kg GRASA
GH	.+/+	284	7018 ± 223a (+149)	172	3.15 ± 0.05a (+0.08)	172	3.46 ± 0.113a	150	225a (+15)	172	208a
	.+/-	69	6869 ± 229a	59	3.14 ± 0.05a (+0.07)	59	3.56 ± 0.114a (+0.1)	48	224a (+14)	59	210a (+2)
	.-/-	15	7131 ± 392a (+262)	9	3.07 ± 0.105a	9	3.46 ± 0.211a	8	210a	9	255a (+47)

La tabla presenta el número de lactancias evaluadas para cada característica. Dentro de cada recuadro aparece la media de mínimos cuadrados ± error estándar. El valor entre paréntesis representa la superioridad de cada genotipo con respecto al de peor desempeño. Los kg de proteína y grasa se calcularon con base en las lactancias que tenían información para las características completas.

Letras diferentes en la misma columna y dentro de las filas correspondientes al mismo genotipo indican diferencia significativa  $p < 0.05$ .

\*Diferencia significativa entre las medias del mismo grupo por el test de Duncan, 95% de confianza.

## Discusión

La frecuencias alélicas obtenidas son similares a la reportada por Yao y colaboradores en (0.86)<sup>16</sup> y Falaki y colaboradores (0.83)<sup>17</sup>, Dybus<sup>18</sup> y Vukasinovic y colaboradores, (0.87)<sup>19</sup>, y mayor que la reportada por Ripoli y colaboradores (0.77)<sup>20</sup>.

En cuanto a producción de leche, los resultados obtenidos en este estudio difieren de los resultados reportados por Ripoli y colaboradores<sup>21</sup> y Dybus<sup>22</sup>, Yao y colaboradores<sup>23</sup> quienes hallaron mejor desempeño en producción de leche para los individuos bGH +/-.

Los resultados obtenidos en este estudio para porcentaje de proteína en leche, concuerdan con los obtenidos por Dybus<sup>24</sup> y difieren de los reportados por Lagziel y colaboradores<sup>25,26</sup>, quien reportó leche con mayor contenido de proteína para los individuos bGH +/- . Igualmente los resultados de producción de proteína por lactancia concuerdan con los obtenidos por Dybus<sup>27</sup>, Yao y colaboradores<sup>28</sup>, pero difieren de los reportados por Lagziel y colaboradores<sup>29</sup> y Falaki<sup>30</sup>, quienes encontraron que los individuos bGH +/- producían mayor cantidad de proteína por lactancia que los bGH +/-.

Para porcentaje de grasa en leche, los resultados de este estudio son similares a los obtenidos por Dybus<sup>31</sup>, pero difieren de Falaki<sup>32</sup>, quien encontró que el alelo bGH<sup>-</sup> (bGH +/- y -/-) estaba asociado con un aumento en el porcentaje de grasa de la leche. De igual manera, los resultados de producción de grasa por lactancia, concuerdan con los obtenidos por Lee y colaboradores<sup>33</sup>, quien encontró el genotipo bGH<sup>-/-</sup> fue el más frecuente en líneas de ganado con altas producciones de grasa, pero son contradictorios de los reportados por Dybus<sup>34</sup>, Yao y colaboradores<sup>35</sup>, quienes hallaron el genotipo bGH +/- como el más favorable para la producción de grasa.

## Conclusiones

Las discrepancias de algunos resultados obtenidos en este trabajo y los demás autores están justificada en la influencia que tiene el medio ambiente sobre los genotipos y en el he-

cho de que un genotipo puede tener diversos comportamientos dependiendo del ambiente al que esté sometido.

Adicionalmente, las tendencias mostradas por los resultados de esta investigación deben ser evaluadas teniendo en cuenta la dificultad que presenta evaluar las combinaciones genotípicas con el tamaño de la muestra que se presentó. No todas las combinaciones posibles fueron halladas y en algunas de las combinaciones las lactancias eran pocas para que el nivel de significancia de los resultados fuera alto.

Entre los marcadores genéticos asociados a características productivas en el ganado bovino, los investigadores han dado pasos importantes en lo concerniente al gen de la hormona del crecimiento (bGH), aunque es claro que aún no se ha establecido un genotipo que presente superioridad contundente para las características de importancia económica en este gen. Los resultados hasta ahora presentados, incluyendo los de esta investigación, así como las importantes funciones biológicas de la hormona del crecimiento, hacen que los genes que codifican estas hormonas generen gran interés para el desarrollo de metodologías de selección asistida por marcadores, acelerando el progreso genético, el tiempo y los costos económicos generados por el mantenimiento de animales destinados a pruebas de prologenie.

La baja frecuencia de algunos de los genotipos encontrados en esta investigación genera una gran dificultad para determinar el grado de asociación que tiene cada uno de éstos con características como producción de leche, grasa y proteína. Se requiere redoblar esfuerzos por parte de los investigadores para aumentar el tamaño muestral y conseguir resultados que generen mayor confiabilidad en cuanto a los marcadores genéticos utilizados en los programas de mejoramiento genético.

## Referencias bibliográficas

1. GARY, W.R. Use of genetic marker for improving dairy cattle. Universidad Park. Pennsylvania. 1993
2. TUCKER, HA. Lactation and its hormonal control. En: KNOBILL, E. and NEILL, JD (eds.). The physiology of reproduction, 2 ed. New York: Raven-Press, 1994. p.1065-1098. Vol. 1

3. KELLY, Paul, *et al* The prolactin growth hormone receptor family. En: Endocrine Reviews. 1991. vol 12, no. 3, p.235-251.
4. VUKASINOVIC, N.; Dennise, SK. And Freeman, AE, Association of growth hormone loci with milk yield traits in holstein Bulls. En: Journal Dairy of Science. April, 1997. vol. 82, no. 4, p. 788-794. 1997.
5. SECCHI, C. and BORROMEO, V. Structure and function of bovine growth hormone, bovine growth hormone as an experimental model for studies of protein-protein interactions. En: Journal of Chromatography., B Biomedical Science and Applications. January, 1997. vol. 688, no. 2p. 161-177
6. LOEVENDAHL, Peter. Polymorphism of the somatotropic axis genes in cattle – physiology and productivity. En: Animal Science Papers and Reports. 2004. vol. 22, no. 1, p. 101-108.
7. MONTALDO, Hugo H. and MESA HERRERA, César A. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. En: EJB. Electronic Journal of Biotechnology. August, 1998. vol. 1, no. 2, p. 1-7
8. JACOB, C., *et al*. Nuevas estrategias en mejora genética. En: Frisona Española. 1999. no. 112 , p.
9. DYBUS, A. Associations of growth (GH) and Prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in polish black and white cattle. En: Animal Science Papers and Reports. 2002. vol. 20, no. 4, p. 203-212
10. *Ibid.*, p. 203-212
11. ZWIERZCHOWSKI, L., *et al* Effects of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and Leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of polish black-and-white cows. En: Animal Science Papers and Reports. 2002. vol. 20, p. 213-227.
12. MILLER, SA.; DYKES, DD and POLESKY, HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. En: Nucleic Acids Research. February, 1988. vol. 16, no. 3, p.1215
13. Acceso GenBank: No. AF426315, M57764.
14. DYBUS. Op. cit., p.203-212
15. HARTL, Daniel L. A primer of populations Genetics. 3 ed. Massachusetts. U.S.A: Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, 2000. 180 p.
16. YAO, J., *et al*. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. En: Genetics. December, 1996. vol. 144, n. 4, p.1809-1816.
17. FALAKI, M., *et al*/ Relationship of polymorphisms for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein friesian bulls. En: Journal of Dairy Sciences. 1996. vol. 79, no. 8, p. 1446-1453
18. DYBUS. Op. cit., p.203-212
19. VUKASINOVIC. Op. cit., p. 788-794
20. RIPOLI, MV., *et al*. Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza criolla Saavedreña. En: Archivos de Zootecnia. 2003. vol. 52, no. 197, p. 89-92.
21. *Ibid.*, p. 89-92
22. DYBUS. Op. cit., p.203-212
23. YAO. Op. cit., p. 1809-1816
24. DYBUS. Op. cit., p.203-212
25. LAGZIELA, *et al* An MspI polymorphism at the bovine growth hormone ( bGH ) gene is linked to a locus affecting milk protein percentage, animal En: Animal Genetics. August, 1999. vol. 30, no. 4, p. 296-299
26. -----LIPKIN E and SOLLER M. Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. En: Genetics. Marz, 1996. vol. 142, no. 3, p. 945-951.
27. DYBUS. Op. cit., p.203-212
28. YAO. Op. cit., p. 1809-1816
29. LAGZIEL. Op. cit., p. 945-951
30. FALAKI. Op. cit., p.1446-1453
31. DYBUS. Op. cit., p.203-212
32. FALAKI. Op. cit., p.1446-1453
33. LEE, B, *et al* Association of somatotropin gene polymorphism with selection for milk yield in holstein cows. En: Journal of Dairy Science. 1993. vol. 76, p. 149.
34. DYBUS. Op. cit., p.203-212
35. YAO. Op. cit., p. 1809-1816