

EFFECTO DEL POLIMORFISMO GENÉTICO DE LAS PROTEÍNAS LÁCTEAS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN GANADO CRIOLLO LIMONERO

Effect of Polymorphic Milk Protein Genes on Milk Yield and Composition Traits in Limonero Creole Cattle

*Inioska Rojas*², *José Aranguren-Méndez*^{1*}, *María Portillo*¹, *Xomaira Rincón*¹, *Gonzalo Martínez*³ y *Gloria Contreras*⁴

¹Unidad de Investigación en Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. ²Cátedra de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. ³Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. ⁴Instituto Nacional Investigaciones Agrícolas. Fax: 0058 261 7596100. E-mail: atilio.aranguren@fcv.luz.edu.ve - atilioaranguren@gmail.com

RESUMEN

Con el objeto de caracterizar el gen de la k-caseína (k-CN) y beta-lactoglobulina (BLG) y determinar la asociación entre éstos sobre la producción y composición de la leche en la raza Criollo Limonero, se utilizó la técnica de la reacción en cadena de polimerasa y la detección de polimorfismo en la longitud de los fragmentos restringidos (PCR-RFLP) en 50 vacas en producción, de la estación local Carrasquero del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Zulia). Los genotipos fueron determinados a través de electroforesis en geles de agarosa. Las frecuencias obtenidas del locus de la k-CN fueron A (0,41) y B (0,59) y las frecuencias genotípicas fueron AA (0,10), AB (0,62) y BB (0,28), mientras que, para BLG, las frecuencias observadas fueron A (0,21) y B (0,79) con frecuencias genotípicas de AA (0,06), AB (0,30) y BB (0,64). Estos resultados mostraron que la población estudiada se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,05$), observándose que la frecuencia del alelo B fue mayor que la de A en ambos casos; con respecto a los haplotipos de k-CN y BLG se encontró efecto de los mismos ($P < 0,05$) sobre porcentaje de sólidos totales (%ST), proteína total (%PT), grasa (%GS), caseína (%CN) y producción total de leche (Ptotal Kg/L), determinando que una selección a favor de los haplotipos AAAB, AABB o BBAA es la más apropiada para aumentar el porcentaje de ST, GS y PT en la población de Criollo Limonero, mejorando de esta manera la calidad de la leche y permitiendo un mayor rendimiento en la producción de queso, mientras que una selec-

ción a favor del haplotipo ABAA aumentará la producción de leche en el rebaño. Estos resultados representan un importante aporte al conocimiento de esta raza y de su importancia, ya que representa una alternativa para sistemas dirigidos a la producción de queso.

Palabras clave: Haplotipos, k-caseína, beta-lactoglobulina, frecuencias genotípicas.

ABSTRACT

In order to characterize the gene of the milk protein k-casein (k-CN) and beta-lactoglobulins (BLG) and determine the association between these on production and milk composition in the Creole Limonero cattle, it was used the Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism technique (PCR-RFLP) in 50 cows in production of the Carrasquero local station of National Institute Agrícola (INIA-ZULIA). Genotypes were determined by agarose gel electrophoresis. The frequencies obtained from the locus of k-CN were A (0.41) and B (0.59) and genotypic frequencies were AA (0.10), AB (0.62) and BB (0.28), while BLG frequency were BLG A (0.21) and B (0.79) with genotypic frequencies of AA (0.06), AB (0.30) and BB (0.64). These results showed that the population studied is in Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.05$), observing that B allele frequency was higher than that of A in both cases, with respect to k-CN and BLG haplotypes found the same effect ($P < 0.05$) on total solids percentage (% TS), protein (% PT), fat (% GS), casein (CN%) and total milk production (Ptotal Kg / L), determining that a selection for haplotypes AAAB, AABB and BBAA is appropriate for increasing

the%TS, GS, and PT in the Creole Limonero population, thus improving the quality of milk and allowing a higher yield in cheese production, while a selection for the haplotype ABAA increase milk production in the herd. These results represent an important contribution to the knowledge of the breed and its importance as an alternative for cheese production systems.

Key words: Haplotypes, kappa casein, betalactoglobulin, frequencies genotypic.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, aproximadamente el 70% de la producción láctea nacional es aportado por la ganadería de doble propósito [3]. El estado Zulia contribuye aproximadamente con más del 35% de la producción de leche siendo el primer productor de leche del país [7], además de contar con una selecta ganadería doble propósito, la región Zuliana cuenta con una raza de gran valor como lo es el Criollo Limonero, orientado hacia la producción de leche, la cual registra producciones de 2.195 Kg. de leche por lactancia de 297 días e intervalos entre partos de 399 días [49] y posee características atractivas como: resistencia a enfermedades, alta eficiencia reproductiva, docilidad de manejo y alta calidad de leche y carne [35].

Los avances en la genética molecular dan origen a la posibilidad de potenciar su difusión y multiplicación para garantizar su conservación y utilización, ya que se han realizado varios estudios a nivel mundial, en cuanto a los diferentes componentes de la leche, incluyendo las evaluaciones de genes que codifican para las proteínas lácteas en numerosas especies, debido a su potencial adicional en el uso de la selección asistida por genes (GAS), así como para caracterización y diferenciación de poblaciones [6, 22, 31, 40, 47, 48].

Recientes estudios de las proteínas lácteas en la leche del Criollo Limonero [4, 15, 42, 43] han demostrado la presencia de los alelos A y B de la κ -caseína (κ -CN) y beta lactoglobulina (BLG), siendo estas variantes alélicas relacionadas con la producción y composición de la leche [12, 16, 21, 30, 31, 36, 41, 42, 43, 48]. La leche de las vacas (*Bos taurus*) que presentan el alelo B de la κ -CN produce micelas de menor tamaño, en las cuales se retienen más sólidos al momento de la coagulación para la producción de quesos, mayor estabilidad al calor y a la congelación, menor tiempo de coagulación, contienen más grasa, proteína y menos agua, por lo tanto son más firmes y presentan un rendimiento quesero superior (3,5-8%) [5, 8, 26, 30-33].

De igual manera, las variantes genéticas de la BLG han presentado efecto significativo para la producción de leche y proteína, destacando que, altos contenidos de proteína en la leche confiere mejores propiedades para la producción de queso [6, 8, 13, 20, 32, 37, 46, 48].

En conjunto, la importancia que posee el ganado Criollo Limonero, patrimonio genético, su aporte a la producción láctea nacional y las cualidades de los genotipos de κ -CN y BLG

hacen necesaria la caracterización de estas proteínas, para determinar su asociación con características de importancia económica, como son la producción y composición de la leche y su uso potencial en la producción quesera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio del polimorfismo de los genotipos de κ -CN y BLG y su asociación con la producción y composición de la leche se genotiparon 50 hembras de la raza Criollo Limonero, provenientes de un rebaño de 350 animales puros, localizado en la estación local Carrasquero adscrita al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Zulia) los análisis se realizaron en los laboratorios de Genética Molecular y de Ciencia y Tecnología de la Leche, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia.

Las muestras de leche provenían del ordeño completo, tanto de la mañana (4 am) como de la tarde (3 pm), de ambos se tomó una alícuota de 250 mL las cuales se mezclaron posteriormente para obtener una muestra de 500 mL, primero se tomaron las muestras del ordeño de la tarde (3 pm), las cuales se mantuvieron a una temperatura de 8°C (Nevera, de 2 puertas modelo RT2BSDTS, Samsung® EUA) y luego se tomaron las de la mañana, con la finalidad de evitar mantener por tanto tiempo la leche en refrigeración, inmediatamente después de haber tomado la muestra se trasladaban al laboratorio en cavas refrigeradas, no fueron tomadas en cuenta para el análisis vacas que estuviesen en proceso de secado, ni aquellas que presentaran mastitis clínica, sólo se tomaron en cuenta las vacas que iniciaban la lactancia.

Determinación de los componentes de la leche

La determinación de los ST se realizó a través del método de Mojonier [1], para grasa se utilizó el método Volumétrico (Gerber) [1], para determinar proteínas totales se empleó el método Micro Kjeldahl [39] y el contenido de proteínas séricas se obtuvo a través de diferencia entre el porcentaje de proteínas totales y el porcentaje de caseínas, para obtener este último la caseína se precipitó con ácido acético en su punto isoelectrónico a pH 4,6 y posteriormente se cuantificó por el método de Kjeldahl [38].

Extracción de ADN y determinación de las variantes alélicas

El ADN genómico se extrajo a partir de glóbulos blancos (leucocitos) de muestras sanguíneas tomadas de la vena yugular a través de tubos vacutainer® que contenían EDTA como anticoagulante [2].

Con base a la secuencia de las proteínas κ -CN y BLG se amplificó un fragmento de 350 y 262 pb, respectivamente, utilizándose los oligonucleótidos JK5:ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG y JK3 CCCATTTGCGCTTCTCTGTAACAGA para κ -CN y BLGP3: GTCCTTGTGCTGGACACCGACTACA

y BLGP4: CAGGACACCGGCTCCCGGTATATGA para BLG [27, 28].

La PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) se llevó a cabo en un volumen total de 25 μ L, cuya reacción contenía 2,5 μ L de buffer, 2 mM $MgCl_2$, 0,1 mM dntp's, 0,6 pmol primers, 0,63 U de Taq polimerasa y ADN 50 ng, los fragmentos obtenidos fueron amplificados en un termociclador (Mastercycler epgradient (S) eppendorf, EUA) estableciendo una primera etapa de activación de la polimerasa a 95°C por 5 min, seguido de 30 ciclos (94°C durante 45 segundos, 58°C por 45 segundos y 72°C durante 45 segundos para ambas proteínas). El programa térmico finalizó con una extensión a 72°C durante 5 min., finalmente los geles se tiñeron con bromuro de etidium (2mg/mL) y se visualizaron las bandas en un transluminador ultravioleta (UV) (UVP, High performance 302 nm, Canadá).

El análisis de las variantes alélicas de k-CN y BLG se realizó por la metodología de la PCR-RFLP a través de la digestión del producto de la PCR con la enzima HinfI y HaeIII (Promega®) respectivamente, para un volumen total de 20 μ L se colocó 0,5 μ L (5U) de la enzima, 6,5 μ L de agua, 2 μ L de Buffer B, 1 μ L de BSA y 10 μ L de producto amplificado, luego se incubó (Felisa ® horno, México) por 4 horas [27, 28].

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas fueron calculadas por conteo directo, además se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg, para determinar que la composición genética de la población estuviese en equilibrio, empleando la distribución de Ji-cuadrado [45]. Para determinar el efecto del genotipo de la proteína láctea sobre la producción de leche y sus componentes se realizó un análisis de varianza para evaluar los efectos genéticos y ambientales. Para ello se consideraron como efectos fijos, número de parto y etapa de lactancia definido por tres periodos 0-90 días, 90-180 y >180 días, época de parto no se incluyó como efecto fijo, debido a que en un análisis previo resultó ser no significativa.

El análisis correspondió a un diseño de parcelas divididas en el tiempo, para hacer la comparación entre las medias, se procedió a realizar una prueba de significancia a través de la metodología de los mínimos cuadrados (Lsmeans) del paquete estadístico SAS [45]. Así mismo, fue evaluada la correlación lineal entre la producción de leche (continua) y los componentes de la leche, usando el procedimiento Proc Corr del paquete estadístico SAS [45].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frecuencias génicas y genotípicas para k-CN y BLG

Cabe destacar por razones obvias que, para el estudio de esta variable solo fueron muestreadas hembras en producción. La población muestreada para el análisis de la composición de la leche presentó frecuencias alélicas y genotípicas

para el locus de la k-CN de 0,41 y 0,59 para los alelos A y B, respectivamente y de 0,10; 0,62 y 0,28 para los genotipos AA, AB y BB, respectivamente. Mientras que, la frecuencia alélica observada para la BLG fue de 0,21 y 0,79 para los alelos A y B, respectivamente y sus frecuencias genotípicas fueron 0,06; 0,30 y 0,64 para los genotipos AA, AB y BB, respectivamente (TABLA I).

TABLA I
FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE K-CN Y BLG EN LAS 50 VACAS CRIOLLO LIMONERO MUESTREADAS PARA EVALUAR LOS COMPONENTES DE LA LECHE

Raza	Proteína	Frecuencias génicas		Frecuencias genotípicas		
		A	B	AA	AB	BB
Criollo Limonero	k-CN	0,41	0,59	(5/50) 0,10	(31/50) 0,62	(14/50) 0,28
	BLG	0,21	0,79	(3/50) 0,06	(15/50) 0,30	(32/50) 0,64

Efecto de la interacción genotípica de k-CN y BLG sobre la producción y composición de la leche

Los haplotipos de las proteínas k-CN y BLG presentaron efectos estadísticamente significativos sobre %ST,%PT,%GS y %CN ($P<0,05$) (TABLA II), para el %ST los mayores valores se obtuvieron con los haplotipos AAAB, BBAA, BBAB, AABB y ABAB, mientras que los porcentajes menores se observaron en ABAA, ABBB y BBBB siendo éstas superadas en 10,7; 8,6 y 8,3% por la interacción AAAB, respectivamente; las interacciones favorables para el mayor porcentaje de ST también resultaron ser las que presentaron el mayor %PT donde la interacción AAAB superó en 12,98 y 10,40% a las genotipos ABAA y ABBB, respectivamente.

De igual manera, el %GS y %CN exhibieron los mayores valores con los haplotipos AAAB, BBAA, AABB y ABAB, el menor valor para el %GS se observó con el haplotipo ABAA el cual fue superado por los anteriores en 21,3; 21,8; 15,7 y 11,9%, respectivamente, mientras que para %CN, el menor valor se observó con el haplotipo ABBB, el cual fue superado en 18,3% por el haplotipo AAAB.

Con respecto a la Ptotal fue mayor en vacas cuyos haplotipos fueron ABAA, mientras que, la menor Ptotal fue observada con las interacciones AAAB y BBAB, las cuales produjeron 75 y 56% menos que las vacas con la interacción ABAA, se observó una correlación negativa entre los ST, PT, CN, GS y la producción total de leche.

En esta población no se observó la presencia del haplotipo AAAA de k-CN y BLG, respectivamente, y aparentemente no existe una explicación o los autores no la encontraron para haber realizado una menor selección del genotipo AA de ambas proteínas.

TABLA II
EFFECTO DE LA INTERACCIÓN GENOTÍPICA DE K-CN Y BLG SOBRE LA CALIDAD,
COMPOSICIÓN Y PRODUCCIÓN DE LECHE DE VACAS CRIOLLO LIMONERO

Genotipos k-CN/BLG	Variables				
	ST (%)	PT (%)	GS (%)	CN (%)	PTotal (kg/L)
AAAB	14,16 ^a ± 0,50	4,35 ^a ± 0,31	5,00 ^a ± 0,45	3,09 ^a ± 0,22	967,5 ^e ± 253,22
AABB	13,65 ^{ab} ± 0,17	4,07 ^a ± 0,11	4,77 ^a ± 0,15	2,84 ^{ab} ± 0,07	2097,1 ^{bc} ± 87,97
ABAA	12,79 ^c ± 0,32	3,85 ^b ± 0,20	4,12 ^b ± 0,29	2,63 ^b ± 0,14	3870,4 ^a ± 163,54
ABAB	13,48 ^b ± 0,09	4,23 ^a ± 0,06	4,61 ^a ± 0,08	2,76 ^{ab} ± 0,04	1977,0 ^c ± 48,33
ABBB	13,03 ^c ± 0,07	3,94 ^b ± 0,04	4,17 ^b ± 0,06	2,61 ^b ± 0,03	1938,4 ^c ± 38,13
BBAA	14,00 ^a ± 0,22	4,49 ^a ± 0,14	5,02 ^a ± 0,20	2,92 ^a ± 0,10	2102,8 ^b ± 114,93
BBAB	13,29 ^{bc} ± 0,16	4,10 ^a ± 0,10	4,29 ^b ± 0,14	2,74 ^{ab} ± 0,07	1697,9 ^d ± 81,59
BBBB	13,08 ^c ± 0,12	4,06 ^a ± 0,07	4,30 ^b ± 0,11	2,69 ^b ± 0,05	2073,3 ^{bc} ± 61,82
\bar{x} ($\mu \pm SD$)	13,11 ± 1,28	4,03 ± 0,78	4,25 ± 1,20	2,66 ± 0,59	1930,06 ± 646,40

a b c Letras distintas en la misma columna, mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$). Media ± Error estándar de la media.

De los ST estudiados, el %GS de la leche es uno de los parámetros que varía en mayor proporción, en el presente estudio presentó una media de 4,25% la cual fue similar a la encontrada en ganados Slovak Pied Breed y Holstein Friesian, en este último reportaron valores de 4,26% [29, 46] difiriendo de las encontradas en ganado Holstein Friesian, Finnish Ayrshire y en Jersey, cuyos valores fueron superiores al encontrado en el presente trabajo, o bien, a las señaladas en ganado Holstein Israelí donde se observaron menores porcentajes de grasa [8, 20, 34, 44].

El valor medio del %PT fue de 4,03%, este valor coincide con los reportados para ganado Jersey, cuyo valor fue 4,01% [34] a diferencia de los citados en Holstein Friesian [8], Holstein Israelí [44], Finnish Ayrshire [20], ganado mestizo de Holstein Friesian [14, 38], Holstein [46], ganado Czech Spotted y Czech Holstein [24], y en Slovak Pied Breed [29], cuyos valores resultaron ser menores a los encontrados en este estudio y oscilaron desde 3,04 y 3,86% de proteína.

Con respecto al %CN, la media general encontrada en el presente estudio resultó ser mayor a la observada en vacas Slovak Pied Breed [29], no obstante, en el análisis de la interacción de ambas proteínas difiere de los resultados obtenidos, dado que se observó un alto %CN en la leche de vacas con genotipos BBBB de k-CN/BLG.

La variación del %PT, al igual que el %GS depende de los mismos factores aunque en menor proporción, encontrándose una relación positiva entre ambas [11], por esta razón se puede observar claramente que, a medida que aumenta el %GS se incrementa también el %PT, en diferentes estudios realizados se han determinado coeficientes de correlación entre el %GS y %PT, el cual ha variado desde 0,3 hasta 0,7 [23, 32].

El %ST encontrado 13,11%, fue similar al encontrado en Holstein Friesian para genotipos BB de BLG [19], no obstante,

difiere de los porcentajes reportados para ganado mestizo, donde evidenciaron un valor superior de ST y también son diferentes, a lo encontrado en las razas Holstein y Pardo Suizo, cuyos valores de ST fueron menores [17].

La PTotal fue de 1930,06 kg/L, superior al reportado en la raza criolla Saavedreña [40] e inferior a los encontrados en ganado Holstein Friesian, Holstein Israelí, Jersey, Finnish Ayrshire, Czech Spotted y Czech Holstein, y en Frisón Negro, cuyos valores oscilaron desde 3448 hasta 9358 kg/L [8, 20, 24, 34, 38, 44, 46, 48].

Se observa que a mayor producción de leche menor es el porcentaje de ST, PT, GSa y CN en la leche, esto se debe a que los componentes de la leche varían con el aumento o la disminución de la producción de la misma [9, 10], ya que, a mayor producción de leche ocurre una dilución de los componentes, por tanto se observan en menor proporción, mientras que a menor producción de leche, aumenta la concentración de sus componentes.

Las diferencias en los valores de %GS, %PT, %ST y Ptotal detectados con respecto a otros estudios se deben a que estos parámetros son afectados por características intrínsecas del animal y no intrínsecas, siendo las de mayor incidencia las de grupo racial, ambiente (clima, temperatura, humedad), época, número de parto, etapa de lactancia nutrición y tipo de ordeño, ya que ha sido reportado el efecto de estos factores sobre la composición de la leche en previas investigaciones [10, 11, 18, 25].

CONCLUSIONES

Se encontró mayor frecuencia del alelo B para las proteínas lácteas k-CN y BLG en el ganado Criollo Limonero. El genotipo de k-CN más frecuente en la población de ganado Criollo

limonero fue el AB, seguido por el BB y AA; por su parte el genotipo de BLG más frecuente fue el BB seguido del AB y AA.

Los haplotipos AAAB, AABB, ABAB, BBAA y BBAB, presentaron la menor producción de leche observándose que el porcentaje de ST fue mayor para estos haplotipos, no obstante, la mayor producción de leche favoreció al haplotipo ABAA el cual presentó el menor porcentaje de sólidos totales mostrando la evidente correlación negativa entre el porcentaje de ST y la producción de leche, causada por un efecto de dilución.

En vista del efecto de los haplotipos de las proteínas k-CN y BLG sobre los componentes de la leche se puede decir que una selección a favor de los haplotipos AAAB, AABB o BBAA es la más apropiada para aumentar el porcentaje de ST, GS y PT en la población de Criollo Limonero. Por otra parte seleccionar a favor del haplotipo ABAA aumentará la producción de leche en el rebaño.

El aumento de la frecuencia de estos haplotipos en la población conllevará al incremento en la producción de leche y a una evidente mejora en la calidad de la misma, por ende un mayor contenido de PT y GS en la leche mejorará sus propiedades en el procesamiento tecnológico, incluyéndose aquí la producción de queso.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido subvencionado por el proyecto CC-0928-06 del CONDES de la Universidad del Zulia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL (AOAC). Official methods of analyses. 16th Ed. Gaithersburg, Maryland. 86 pp. 1997.
- [2] ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; JORDANA, J.; AVELLANET, R.; TORRENS, M. Estudio de la variabilidad genética en la raza bovina Mallorquina para propósitos de conservación. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XII (5): 358-366. 2002.
- [3] ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; ROMÁN-BRAVO, R.; VILLASMIL-ONTIVEROS, Y.; CHIRINOS, Z.; ROMERO, J.; SOTO-BELLOSO, E. Componentes de Varianza y Parámetros genéticos para características de crecimiento en animales mestizos de Doble Propósito. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XVI (1): 55-61. 2006.
- [4] ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; PORTILLO, M.; ROJAS, I.; VILLASMIL-ONTIVEROS, Y.; VALBUENA, E.; CONTRERAS, G.; ROMÁN, R. Caracterización genética de la k-caseína en ganado Criollo Limonero. En: **XX Reunión Asociación Latinoamericana de producción Animal. XXX Reunión Asociación Peruana de Producción Animal. V Congreso Internacional de Ganadería Doble Propósito**. Cusco-Perú, 22 a 25 de octubre, 13 pp. 2007.
- [5] BOBE, G. Milk protein genotypes explain variation of milk protein composition. Iowa State University Animal Industry Report. 36 pp. 2004.
- [6] BONVILLANI, A.; DI RENZO, M.; TIRANTI, I. Genetic polymorphism of milk protein loci in Argentinian Holstein cattle. **Genet Molec Biol**. 23(4): 819-823. 2000.
- [7] BOSCÁN, M.; SANDREA, M. "Competitividad del sector industrial de la leche en el estado Zulia-Venezuela. **Rev Venez de Geren (RVG)**. 8 (23): 496-509. 2003.
- [8] BOVENHUIS, H.; VAN ARENDONK, J.; KORVER, S. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. **J. Dairy Sci**. 75:2549. 1992.
- [9] BRÍÑEZ, W.; VALBUENA, E.; CASTRO, G.; TOVAR, A.; RUIZ-RAMÍREZ, J. Algunos parámetros de composición y calidad en la leche cruda de vacas doble propósito en el municipio Machiques de Perijá Edo. Zulia, Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XVIII (5): 607-617. 2008.
- [10] BRÍÑEZ, W.; VALBUENA, E.; CASTRO, G.; TOVAR, A.; RUIZ, J.; ROMÁN, R. Efectos del mestizaje, época del año, etapa de lactancia y número de partos sobre la composición de leche cruda en vacas mestizas. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XIII (6): 490-498. 2003.
- [11] CASADO, P.; GARCÍA, J. La calidad de la leche y los factores que la influncian. **Indust. Láct. Españ**. 81: 1-30. 1985.
- [12] CELIK, S. B-Lactoglobulin genetic variants in Brown Swiss breed and its association with compositional properties and rennet clotting time of milk. **Int. Dairy J**. 13:727-731.2003.
- [13] CERBULIS, J.; FARELL, H. Composition of milks of dairy cattle. I. Protein, lactose, and fat contents and distribution of protein fraction. **J. Dairy Sci**. 58:817. 1974.
- [14] CZERNIAWSKA-PIŃTKOWSKA, E.; KAMIENIECKI, H.; PILARCZYK, R.; RZEWUCKA, E. A comparison of protein polymorphisms in milk produced by two dairy farms in West Pomerania. **Arch. Tierz**. 47(2): 155-163. 2004.
- [15] DOGRU, U.; OZDEMIR, M.; ERCISLI, S. Genetic polymorphism in Kappa-casein gene detected by PCRRFLP in cattle. **J. Appl. Anim. Res**. 33: 65-67. 2008.
- [16] FREYER, G.; LIU, Z.; ERHARDT, G.; PANICKE, L. Casein polymorphism and relation between milk production traits. **J. A. Breed Gen**. 116:87-97. 1999.
- [17] FUENMAYOR, C.; CHICCO, C.; BODISCO, V.; CAPO, E. Estudio de los componentes de la leche de vacas Holstein y pardo suizas durante cuatro lactancias en Venezuela. **Agro. Trop**. XXIII (2): 541-554. 1975.
- [18] GIBSON, J. The potential for genetic change in milk fat composition. **J. Dairy Sci**. 74:3258-3266. 1991.

- [19] HILL, J. The relationship between β -lactoglobulin composition in New Zealand dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 76:281-286. 1993.
- [20] IKONEN, T.; OJALA, M.; RUOTTINEN, O. Associations between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. **J. Dairy Sci.** 82: 1026-1033. 1999.
- [21] JACOB, E.; PUHAN, Z. Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins. A review. **Int. Dairy J.** 2: 157-178. 1992.
- [22] LARA, M.; GAMMA, L.; BUFARAH, G.; SERENO, J.; COLEGADO, E.; ABREU, U. Genetic polymorphisms at the k-casein locus in Pantaneiro cattle. **Arch. Zoot.** 51: 99-105. 2002.
- [23] LAVIN, R. Variaciones de la composición láctea de vacas con distinto número de lactancias. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Tesis de Grado. 54 pp. 1996.
- [24] MANGA, I.; ØÍHA, J.; DVOŘÁK, J. Comparison of influence markers *csn3* and *csn2* on milk performance traits in czech spotted and holstein cattle tested at first, fifth and higher lactation. **Acta fytotechnica et zootechnica.** 13: 13-15. 2006.
- [25] MATTHEWS R.; HARMON, R. ; LANGLOIS, B. Prevalence of *Staphylococcus* species during the preparturient period in primiparus and multiparus cows. **J.Dairy Sci.** 75:1835-1839. 1992.
- [26] MCLEAN, D.; GRAHAM, E.R.B.; PONZONI, R. W.; MCKENZIE, H. A. Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. **J. Dairy Res.** 51: 531-546. 1984.
- [27] MEDRANO, J.; AGUILAR-CÓRDOVA, E. Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. **Anim. Biotechnol.** 1(1):73-77. 1990a.
- [28] MEDRANO, J.; AGUILAR-CÓRDOVA, E. Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. **Biotechnol.** 8:144-146. 1990b.
- [29] MICHALCOVÁ, A.; KRUPOVÁ, Z. Influence of composite κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed. **Czech J. Anim. Sci.** 52 (9): 292-298. 2007.
- [30] NARANJO, J.; POSSO, A.; CÁRDENAS, H.; MUÑOZ, J. Detección de variantes alélicas de la kappa-caseína en bovinos Hartón del Valle. **Acta Agron.** 56:1. 2007.
- [31] NG-KWAI-HANG, K.; MONARDES, A ; HAYES, J. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. **J. Dairy Sci.** 73:3414. 1990.
- [32] NG-KWAI-HANG, K.; HAYES, J.; MOXLEY, J.; MONARDES, H. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 67:835. 1984.
- [33] NG-KWAI-HANG, K.; HAYES, J.; MOXLEY, J.; MONARDES, H. Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. **J. Dairy Sci.** 69:22. 1986.
- [34] OJALA M.; FÁMULA, T.; MEDRANO, J. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. **J. Dairy Sci.** 80:1776-1785. 1997.
- [35] PÁEZ, L. Comportamiento productivo del rebaño Criollo Limonero en el Piedemonte Barinés. **INIA Divulga** 6:33-37. 2005.
- [36] PATEL, R.; CHAUHAN, J.; SINGH, K.; SONI, K. Allelic frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian crossbred (*Bos taurus* x *Bos indicus*) dairy bulls. **J. Vet. Anim. Sci.** 31 (6): 399-402. 2007.
- [37] PEÈIULAITIENE, N.; MICEIKIENE, I.; MIŠEIKIENE, R.; KRASNOPIOROVA, N.; KRIAUSIENE, J. Genetics factors influencing milk production traits in Lithuanian dairy cattle breeds. **Zemes Ukio Mokslai.** T. 14 (1): 32-38. 2007.
- [38] PÉREZ, L.; ANRIQUE, R.; GONZÁLEZ, H. Factores no genéticos que afectan la producción y composición de la leche en un rebaño de pariciones biestacionales en la décima región de los lagos, Chile. **Agric. Téc. Chile.** 67(1):39-48. 2007.
- [39] RICHARDSON, G. Dairy products. In: **Official methods of analysis of the A.O.A.C.** Association of Official Analytical Chemists. HELRICH, K. (Ed). 2nd Ed. Virginia, AOAC. USA. Pp 802-863. 1990.
- [40] RIPOLI, M.; CORVA, P.; ANTONINI, A.; DE LUCA, J.; ROJAS, F.; DULOUT, F.; GIOVAMBATTISTA, G. Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza criolla Saavedreña. **Arch. Zoot.** 52: 89-92. 2003.
- [41] ROBITAILLE, G. ; BRITTEN, M. ; MORISSET , J. ; PETITCLERC, D. Quantitative analysis of B-Lactoglobulin A and B genetic variants in milk of cows β -Lactoglobulin AB throughout lactation. **J. Dairy Res.** 69:651-654. 2002.
- [42] ROJAS, I.; ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; PORTILLO, M.; VILLASMIL-ONTIVEROS, Y.; VALBUENA, E.; RINCON, X.; CONTRERAS, G.; YAÑEZ, L. Polimorfismo genético de la kappa-caseína en ganado Criollo Limonero. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIX (6): 645-649. 2009.
- [43] ROJAS, I.; ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; PORTILLO, M.; VILLASMIL-ONTIVEROS, Y.; VALBUENA, E.; RINCON, X.; CONTRERAS, G.; YAÑEZ, L. Frecuencias alélicas

- de beta-lactoglobulina en ganado Criollo Limonero. **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. XX (2): 176-180. 2010.
- [44] RON, M.; YOFFE, O.; EZRA, E.; MEDRANO, J.; WELLER, J. Determination of effects of milk protein genotype on production traits of Israeli Holsteins. **J Dairy Sci**. 77:1106-1113. 1994.
- [45] STATISCAL ANALYSIS SYSTEM INTITUTE (SAS). Users guide. Statistcs. Versión 9.2 Cary, NC. U.S.A. 2002.
- [46] TSIARAS, A.; BARGOULI, G.; BANOS, G.; BOSCOS, C. Effect of kappa-casein and beta-Lactoglobulin *loci* on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. **J. Dairy Sci**. 88:327-334. 2005.
- [47] UFFO, O.; MARTÍN, I.; MARTÍNEZ, S.; RONDA, R.; OSTA, R.; RODELLAR, C.; ZARAGOZA, P. Caracterización genética de seis proteínas lácteas en tres razas bovinas cubanas. **AGRI**. 39: 15-24. 2006.
- [48] VAN EENENNAAM, A.; MEDRANO, J. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. **J. Dairy Sci**. 74: 1730-1742. 1991.
- [49] VILLASMIL-ONTIVEROS, Y.; ROMÁN-BRAVO, R.; YÁÑEZ-CUÉLLAR, L.; CONTRERAS, G.; JORDANA, J.; ARANGUREN-MÉNDEZ, J. Diversidad genética de la raza Criollo Limonero utilizando Marcadores de ADN Microsatélites. **Rev. Cient. FVC-LUZ**. XVIII (4): 415-423. 2008.