

Efecto de polimorfismos genéticos en la producción de leche del ganado Siboney de Cuba

Atzel Acosta Abad^I, Arianne Sanz Fernández^{II}, Rodrigo Ronda Martínez^I, Rosario Osta Pinzolas^{II}, Clementina Rodellar Penella^{II}, Inmaculada Martín-Burriel^{II}, Odalys Uffo Reinosa^{I*}, Pilar Zaragoza Fernández^{II}

^I Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Laboratorio de Genética Molecular (GenMol), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32700, Mayabeque, Cuba. ^{II} Universidad de Zaragoza, Facultad de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Genética Bioquímica (LAGENBIO), Miguel Servet 177, CP 50013, Zaragoza, España.

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue estimar los componentes de varianza, los parámetros genéticos y el efecto individual de ocho polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) en los genes correspondientes [α_{S1} -caseína (CASA1), β -caseína (BCAS), α_{S2} -caseína (CASA2), κ -caseína (KCAS), α -lactoalbúmina (LAA), β -lactoglobulina (LAG), hormona de crecimiento (GH) y prolactina (PRL)], sobre la producción de leche a los 305 días de lactancia en la raza Siboney de Cuba. Se analizaron 1904 registros de lactancias de 913 vacas procedentes de 17 vaquerías, bajo un modelo de repetibilidad. A través de la técnica de minisequenciación se determinó el polimorfismo en los genes. Los ocho loci estudiados tuvieron un comportamiento polimórfico. Los coeficientes de heredabilidad y repetibilidad estimados para la producción de leche a los 305 días fueron de 0,12 y 0,33. Los loci LAG ($p \leq 0,05$) y PRL ($p \leq 0,10$) tuvieron un efecto significativo en la producción de leche. Los valores de heredabilidad y la repetibilidad para la producción de leche a los 305 días fueron moderados, lo que indica que es posible obtener una respuesta positiva a la selección en esta población. La selección para los genotipos LAG^{AA} y PRL^{BB} resultará en vacas que tengan una mayor producción de leche.

Palabras clave: caseínas, α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, hormona del crecimiento, prolactina, heredabilidad, producción de leche.

Effect of gene polymorphisms on milk production of Siboney de Cuba cattle

ABSTRACT: The objective of this study was to estimate the variance components, genetic parameters, and the individual effect of eight single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the corresponding genes [α_{S1} -casein (CASA1), β -casein (BCAS), α_{S2} -casein (CASA2), κ -casein (KCAS), α -lactoalbumin (LAA), β -lactoglobulin (LAG), growing hormone (GH), and prolactin (PRL)] in the milk production of Siboney de Cuba cattle at 305-d of lactation. In total, 1904 lactation records of 913 cows from 17 farms were analyzed under a repeatability model. The minisequencing technique was used for uncovering the polymorphism in genes. The eight loci studied had a polymorphic behavior. The heritability and repeatability coefficients estimated for milk production were 0.12 and 0.33 at 305 days. LAG ($p \leq 0.05$) and PRL ($p \leq 0.10$) loci had a significant effect on milk production. Such coefficients were moderate, indicating that it is possible to obtain a positive response to selection in this population. The selection for both the LAG^{AA} and PRL^{BB} genotypes will result in cows having a higher milk production.

Key words: caseins, α -lactoalbumin, β -lactoglobulin, growth hormone, prolactin, heritability, milk production.

INTRODUCCIÓN

La introducción de razas europeas en la región tropical trae consigo en la mayoría de los casos una significativa reducción de las capacidades productivas en esas razas, debido a la insuficiente habilidad de adaptación a las condiciones ambientales extremas. En tal sentido, las altas temperaturas constituyen un

importante factor estresante (1), por lo cual, la creación de nuevas razas ha constituido una importante vía de mejoramiento genético en las regiones tropicales. En nuestro país se crearon nuevas razas: Siboney de Cuba ($5/8$ Holstein - $3/8$ Cebú), Mambí de Cuba ($3/4$ Holstein - $1/4$ Cebú), Taíno de Cuba ($5/8$ Holstein - $3/8$ Criollo) y Cebú Lechero Cubano ($3/4$ Cebú - $1/4$ Holstein).

* Autor para la correspondencia: Odalys Uffo Reinosa. Correo electrónico: uffo@censa.edu.cu

Por otro lado, la selección de animales para la reproducción se ha basado, en la mayoría de los casos, en la evaluación de rasgos cuantitativos. Con una frecuencia creciente se desarrollan estudios en proteínas polimórficas y los genes que codifican para estas, con el fin de identificar las relaciones que se establecen entre estos genes y diferentes rasgos productivos en animales domésticos. Desde el punto de vista económico, esta táctica ha sido importante, pues permitió incrementar la eficiencia de la selección y, con esto, la productividad de los rebaños (2).

La leche bovina contiene de 3-5% de proteínas, de las cuales el 80% son las caseínas [α_{s1} -caseína (CASA1), β -caseína (BCAS), α_{s2} -caseína (CASA2) y κ -caseína (KCAS)]. El 20% restante está formado por proteínas séricas [α -lactoalbúmina (LAA) y β -lactoglobulina (LAG)] (3). En múltiples investigaciones se establecieron diferentes niveles de relación entre las variantes genéticas de las proteínas lácteas y la producción de leche (4) y el perfil de proteínas (5).

Dos de las hormonas más estudiadas que participan en los procesos de formación y crecimiento de la glándula mamaria (mamogénesis), el comienzo de la lactación (lactogénesis) y el mantenimiento de la secreción láctea por el epitelio glandular (galactopoesis) son la hormona de crecimiento (GH) durante la pubertad y la prolactina (PRL) en la preñez (6). Por el importante papel que juegan estas dos hormonas, se realizaron estudios en los genes que codifican para estas, lo que permitió identificar polimorfismos genéticos asociados en diferentes niveles a caracteres productivos, como son el contenido de grasa en la leche y la producción de leche (7).

Los estudios sobre la influencia de las variantes genéticas de las proteínas lácteas y los polimorfismos genéticos de la GH y PRL en la producción de leche han tenido un significativo avance, pero los resultados alcanzados por los diferentes grupos de investigadores no son homogéneos. Es necesario realizar estos estudios en países del trópico, pues existe un conjunto de limitaciones metabólicas que afectan significativamente la producción bovina en dichas condiciones, como es una marcada reducción en el consumo de materia seca (8).

En el presente estudio se estimaron los componentes de varianza, parámetros genéticos y el efecto individual de ocho polimorfismos de nucleótido simple (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) en ocho genes (CASA1, BCAS, CASA2, KCAS, LAA, LAG, GH y PRL) en la producción de leche a los 305 días de lactancia en vacas de la raza Siboney de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Información de los animales y edición de datos

Los registros de lactancias de vacas Siboney de Cuba se obtuvieron del Sistema de Control Pecuario (SISCOP) de Cuba. Los animales con seis, o más partos, se incluyeron en un único grupo. Los registros de lactancias completas de 305 días se consideraron usando el método prueba de intervalo. A partir de lactancias incompletas de 100 a 304-d se estimaron lactancias de 305-d, para lo que se utilizó el método basado en la última muestra (9).

El conjunto de datos inicial fue de 2065 registros de lactancias y se excluyeron del análisis los registros de animales no identificados o de padres y rebaños desconocidos. Para evitar posibles errores en los registros, se eliminaron aquellas lactancias con tres desviaciones estándar por encima o por debajo de la media de producción de leche y grupos de contemporáneas con menos de cinco animales. También se eliminaron del estudio registros de lactancias con menos de 100 días o con producción de leche inferior a 100 Kg/lactancia. El proceso de edición de los datos se realizó con el programa SAS versión 9.3.

El conjunto final de datos procesados estuvo conformado por 1904 registros de lactancias de 913 vacas procedentes de 17 vaquerías. Los registros de lactancia obtenidos correspondieron al intervalo de años 2001-2012. El árbol de pedigrí se conformó con 3201 animales e incluyó hasta la tercera generación.

Extracción de ADN y genotipado

Se colectaron 913 muestras de sangre de vacas incluidas en el estudio, para lo cual se tuvieron en cuenta las normas técnicas y éticas del Consejo Cubano de Ética para la investigación en animales. El ADN genómico se purificó a partir de linfocitos, con el uso del juego de reactivos Genomic DNA Purification Kit (Fermentas), según las recomendaciones del fabricante. La identificación del polimorfismo en los genes que codifican para las seis principales proteínas de la leche, la hormona del crecimiento y la prolactina, se realizaron usando la técnica de miniselección para la identificación de SNPs (10). Los polimorfismos analizados en estos genes fueron:

g.26181 A > G (GenBank - X59856) del locus CASA1
 g.223 C > G (GenBank - EU310401) del locus BCAS
 g.492 G > T (GenBank - X68972) del locus CASA2
 g.353 A > C (GenBank - AJ841946) del locus KCAS
 g.851 G > A (GenBank - X06366) del locus LAA
 g.5263 C > T (GenBank - X14710) del locus LAG

g.2141 C > G (GenBank - M57764) del locus GH
g.1810272 A > G (GenBank - AF426315) del locus PRL.

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas se calcularon a través del programa GENEPOP Versión 3.4 (11). La producción de leche para 305 días de lactancia se analizó con la utilización del modelo de repetibilidad, con el programa WOMBAT (12). El modelo incluyó la varianza genética aditiva, los efectos aleatorios del ambiente permanente y los residuales. En su forma matricial, el modelo se representa de la siguiente forma:

$$y_i = X_i b_i + Z_i a_i + W_i p_i + e_i$$

donde y_i = vector de las observaciones conformado por la producción de leche; b_i = vector de los efectos fijos (grupo de contemporáneas año-rebaño, número de lactancias); a_i = vector de los efectos aleatorios del animal; p_i = vector de los efectos aleatorios del ambiente permanente; e_i = vector de los efectos residuales aleatorios y X, Z, W = matrices de diseños que relacionan los datos con los efectos fijos, aditivos y del ambiente permanente, respectivamente.

Se asume lo siguiente:

$$\text{var} \begin{bmatrix} a_i \\ p_i \\ e_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 & 0 \\ 0 & I\sigma_p^2 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

donde: A = matriz de relaciones entre los individuos; I = matriz de identidad y σ_a^2 , σ_p^2 , σ_e^2 son la varianza genética aditiva, varianza de los efectos aleatorios del ambiente permanente y varianza de los efectos residuales aleatorios, respectivamente.

Para el análisis de los marcadores moleculares se utilizó un modelo similar con la aplicación del programa QXPAK (13) en la opción snp_ad, y se estudiaron los SNPs de forma individual. En su forma matricial, el modelo se representa de la siguiente forma:

$$y_i = X_i b_i + Z_i a_i + W_i p_i + SNP + e_i$$

donde: SNP = vector del efecto individual del genotipo del SNP del locus estudiado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los ocho SNP en los genes analizados (CASA1, BCAS, CASA2, KCAS, LAA, LAG, GH y PRL) se muestran en la Tabla 1. Los alelos más frecuentes para cada locus fueron: alelo B en los loci CASA1, BCAS, LAA y LAG, el alelo A en los loci CASA2, KCAS y PRL y en el locus GH el alelo L fue el de mayor frecuencia.

El alelo B está descrito con mayor frecuencia en razas lecheras para los loci CASA1 (14), LAA (14, 15) y LAG (3, 15). En el Siboney de Cuba, la frecuencia alélica encontrada en el locus BCAS no coincide con la descrita en otras razas bovinas lecheras, donde el alelo A aparece con una mayor frecuencia (16). En razas lecheras el alelo A se describe con frecuencias elevadas en el locus CASA2 (4, 14), el locus KCAS (4) y el locus PRL (7). En el caso del locus GH aparece más frecuentemente el alelo L (17). Los resultados que han alcanzado diferentes autores parecen ser contradictorios, pues a la complejidad del carácter producción láctea se une la gran variabilidad de las condiciones experimentales (tamaño de muestra, razas analizadas, proteína específica estudiada y frecuencias relativas de sus variantes, procedimientos de determinación de genotipos y variantes consideradas, métodos de estimación de la producción, etc.), así como el rigor de los ajustes estadísticos de otros factores igualmente importantes sobre la producción de leche (edad de la vaca, estación, estado sanitario o efectos de otras variantes genéticas). No obstante, se han realizado numerosos estudios de relación entre las variantes genéticas de las proteínas lácteas y sus efectos sobre las características tecnológicas de la leche en diferentes especies, con mucho mayor énfasis en el bovino (18).

Los componentes de varianza y parámetros genéticos para la producción de leche en la raza Siboney de Cuba se muestran en la Tabla 2. Los valores de heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r^2) de la producción de leche en la población Siboney fueron de 0,12 y 0,33 respectivamente, los cuales se consideran valores medios.

En estudios previos realizados en el genotipo Siboney de Cuba, donde se usó un modelo animal

TABLA 1. Frecuencias genotípicas y alélicas por locus. /Genotypic and allelic frequencies per locus.

Locus	Frecuencia Genotípica (Freq.)						Frecuencia alélica			
	PP		Pq		qq		P		q	
	Genotipo	Freq.	Genotipo	Freq.	Genotipo	Freq.	Alelo	Freq.	Alelo	Freq.
CASA1	BB	0,428	BC	0.452	CC	0.120	B	0.654	C	0.346
BCAS	AA	0,000	AB	0.362	BB	0.638	A	0.181	B	0.819
CASA2	AA	0,948	AD	0.045	DD	0.007	A	0.970	D	0.030
KCAS	AA	0,619	AB	0.330	BB	0.051	A	0.784	B	0.216
LAA	AA	0.068	AB	0.128	BB	0.804	A	0.132	B	0.868
LAG	AA	0.059	AB	0.527	BB	0.414	A	0.323	B	0.677
GHL127V	LL	0.581	LV	0.334	VV	0.085	L	0.748	V	0.252
PRL	AA	0.539	AB	0.451	BB	0.010	A	0.764	B	0.236

TABLA 2. Componentes de varianza y parámetros genéticos para la producción de leche. / Variance components and genetic parameters for milk production.

	Producción de leche
σ_a^2	66267.8
σ_{per}^2	108630.0
σ_e^2	362340.0
σ_p^2	537237.8
h^2	0.12 ± 0.03
r^2	0.33 ± 0.04

σ_a^2 = varianza genética aditiva; σ_{per}^2 = varianza del ambiente permanente; σ_e^2 = varianza residual; σ_p^2 = varianza fenotípica total; h^2 = heredabilidad; r^2 = repetibilidad.

multicarácter (19), se observaron valores de heredabilidad (h^2) similares a los obtenidos en este estudio. Con la utilización del modelo padre-abuelo materno y la metodología BLUP, la h^2 de la producción de leche en dos niveles de producción (normal y bajo) fue de 0.12 ± 0.05 y 0.04 ± 0.02 , respectivamente (20).

En otro genotipo cubano (el Mambí de Cuba), con la utilización del modelo animal univariado por Hernández et al. (21), se observaron valores de h^2 para la producción de leche en tres niveles de producción (P1, P2 y P3) de $0,227 \pm 0,029$, $0,059 \pm 0,015$ y $0,170 \pm 0,020$, respectivamente. También se estudió en este genotipo la h^2 de la producción de leche en la primera lactancia y la producción de leche total acumulada de por vida, con valores de $0,15 \pm 0,03$ y $0,10 \pm 0,03$, para cada nivel de producción analizado (22). En el genotipo Cebú Cubano, con la utilización del modelo animal univariado, se obtuvieron valores de h^2 de moderada a baja en ambos casos ($0,22 \pm 0,04$ en el grupo ambiental alto y $0,15 \pm 0,03$ en el bajo) (23). Los valores de h^2 estimada para la producción de leche en vacas Holstein en México estuvieron entre $0,17 \pm 0,02$ y $0,19 \pm 0,02$ en las primera y segunda lactancias, y de $0,12 \pm 0,03$ en la tercera lactancia (24).

En estudios previos en la raza Siboney de Cuba, la r^2 de la producción de leche tuvo valores medios (19) similares a los determinados en este estudio. Por otra parte, en estudios realizados en la población Mambí se estimaron valores de r^2 medios y altos (21) y en una población Holstein se estimaron valores altos (25).

El efecto individual de los ocho SNPs en los genes estudiados (CASA1, BCAS, CASA2, KCAS, LAA, LAG, GH y PRL) se presenta en la Tabla 3. De estos genes estudiados, la LAG ($p < 0,05$) y la PRL ($p < 0,10$) tuvieron un efecto significativo sobre la producción de

TABLA 3. Efectos del genotipo de las proteínas lácteas en la producción de leche. /Effect of milk protein genotype on milk production.

Locus	Genotipo	n	Media	P-valor
CASA1	BB	391	1934.7	0.540
	BC	413	1913.7	
	CC	109	1845.5	
BCAS	AB	331	1966.1	0.455
	BB	582	1870.2	
CASA2	AA	866	1913.4	0.547
	AD	41	2033.0	
	DD	6	1943.2	
KCAS	AA	565	1870.0	0.602
	AB	301	1960.2	
	BB	47	1863.6	
LAA	AA	62	1860.4	0.210
	AB	117	2027.0	
	BB	734	1885.3	
LAG	AA	54	1995.8	0.041*
	AB	481	1905.8	
	BB	378	1897.3	
GHL127V	LL	530	1912.0	0.353
	LV	305	1905.3	
	VV	78	1890.2	
PRL	AA	492	1810.2	0.073†
	AB	412	2004.2	
	BB	9	2403.5	

† $p \leq 0.10$

* $p \leq 0.05$

n = número de animales

leche. Esta está influenciada por múltiples factores, que en pocos casos pueden ser controlados en el transcurso de una investigación de efecto individual de genes sobre la producción de leche. Por eso, es frecuente encontrar trabajos científicos que usan niveles de significación de 0,10 (4, 26).

Estudios realizados en el norte de Grecia en animales de la raza Holstein, importados de Francia, se observó una relación significativa entre las variantes alélicas de la LAG y la producción de leche, diferente para el locus KCAS, donde solo se observó la relación

de los genotipos encontrados con el contenido proteico (27). Por otro lado, los resultados obtenidos por Brym et al. (28) en ganado lechero Negro y Blanco, muestran una relación significativa entre las variantes del SNP de la PRL y la producción de leche.

Para el ganado Simmental Italiano se ha descrito que no existieron diferencias significativas en la producción de leche entre los haplotipos encontrados de la BCAS y KCAS, mientras que para la LAG se observó una desviación aditiva ($p < 0,10$) para la producción de leche (4). En el caso del ganado de leche Negro y Blanco en Turquía, donde se estudió el polimorfismo de los loci CASA1, BCAS, KCAS y LAG, no se encontró relación significativa entre las variantes genéticas y el rendimiento en la producción de leche (29).

La presencia de nuevos polimorfismos en el locus BCAS se ha estudiado para la raza Holstein Friesian, donde se evaluó el grado de asociación de esta variante con la producción y la composición proteica de la leche. En tal sentido, la variante A (BCAS) solo está presente en los casos de animales con la variante B en la KCAS y se observó que está significativamente asociada con el rendimiento porcentual de las proteínas lácteas y no con la producción de leche (30).

Numerosas investigaciones se han desarrollado para estudiar el efecto del polimorfismo de las proteínas lácteas en la producción de leche o su composición, pero todavía los resultados son inconsistentes. Esto se debe a que la producción de leche está regida por un sistema complejo de diferentes factores, a lo que se suma la utilización de diferentes modelos estadísticos (31).

Los ocho loci estudiados tuvieron un comportamiento polimórfico. Las estimaciones de heredabilidad y la repetibilidad para la producción de leche a los 305 días fueron moderadas, lo que indica que es posible obtener una respuesta positiva a la selección en esta población. Los loci LAG y PRL tuvieron un efecto significativo en la producción de leche.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer el soporte financiero brindado por dos becas de estudios MAEC-AECID España, así como a la Dirección Nacional de Genética en Cuba por su contribución en la recopilación de datos y de muestras analizadas. Extendemos nuestro agradecimiento a la especialista Carmen Cons por su asistencia técnica.

REFERENCIAS

1. Iglesias JM, García L, Toral OC. Productive performance of different cattle genotypes in a commercial farm. Finishing stage. *Pastos y Forrajes*, 2015;38(2), abril-junio, 185-193.
2. Vidović V, Nemeš Ž, Popović-Vranješ A, Lukač D, Cvetanović D, Štrbac L, et al. Heritability and correlations of milk traits in the view of kappa-casein genotypes in Vojvodina Holstein-Friesian dairy cattle. *Mljekarstvo*, 2013;63(2):91-97.
3. Patel RK, Chauhan JB, Singh KM, Soni KJ. Allelic frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian crossbred (*Bos taurus* x *Bos indicus*) dairy bulls. *Turk Vet Hayvanc Dergis*, 2007;31(6): 399-402.
4. Bonfatti V, Di Martino G, Cecchinato A, Vicario D, Carnier P. Effects of β -K-casein (CSN2-CSN3) haplotypes and β -lactoglobulin (BLG) genotypes on milk production traits and detailed protein composition of individual milk of Simmental cows. *J Anim Sci*, 2010;93(8):3797-3808.
5. Huang W, Peñagaricano F, Ahmad K, Lucey J, Weigel K, Khatib H. Association between milk protein gene variants and protein composition traits in dairy cattle. *J Anim Sci*, 2012;95(1):440-449.
6. Rezaei R, Wu Z, Hou Y, Bazer FW, Wu G. Amino acids and mammary gland development: nutritional implications for milk production and neonatal growth. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2016;7:20, DOI 10.1186/s40104-016-0078-8.
7. Iso-Touru T, Sahana G, Guldbbrandtsen B, Lund MS, Vilkki J. Genome-wide association analysis of milk yield traits in Nordic Red Cattle using imputed whole genome sequence variants. 2016. *BMC Genetics*, 2016;17:55, DOI 10.1186/s12863-016-0363-8.
8. Adameczyk K, Górecka-Bruzda A, Nowicki J, Gumułka M, Molik E, Schwarz T, Earley B, Klocek C. Perception of environment in farm animals – A review. *Annals of Animal Science*, 2015;15(3):565–589, ISSN (Online) 2300-8733, DOI: 10.1515/aoas-2015-0031.
9. Wiggans G, Van Vleck LD. Extending partial lactation milk and fat records with a function of last-sample production. *J Anim Sci*, 1979;62(2):316-325.
10. Acosta AC, Sanz A, Uffo O, Ronda R, Osta R, Martín-Burriel I, et al. Desarrollo de un ensayo por miniselección de ocho SNP asociados a producción láctea. *Archivos de Zootecnia*, 2011;60(231): 595-606.
11. Raymond M, Rousset F. Genepop (Version-1.2)-Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *J Hered*, 1995;86(3):248-249.
12. Meyer K. WOMBAT - A tool for mixed model analyses in quantitative genetics by restricted maximum likelihood (REML). *J Zhejiang Univ Sci B*, 2007;8(11):815-821.
13. Pérez-Enciso M, Misztal I. QxPak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. *Bioinformatics*, 2004;20(16):2792-2798.
14. Kishore A, Mukesh M, Sobti RC, Mishra BP, Sodhi M. Variations in the Regulatory Region of Alpha S1-Casein Milk Protein Gene among Tropically Adapted Indian Native (*Bos Indicus*) Cattle. 2013. *ISRN Biotechnology Volume 2013*, Article ID 926025, 10 pages, <http://dx.doi.org/10.5402/2013/926025>
15. Caroli AM, Chessa S, Erhardt GJ. Short communication: milk protein genetic variation and casein haplotype structure in the Original Pinzgauer cattle. *J Anim Sci*, 2010;93(3):1260-1265.
16. Demeter RM, Markiewicz K, Van Arendonk JAM, Bovenhuis H. Relationships between milk protein composition, milk protein variants, and cow fertility traits in Dutch Holstein-Friesian cattle. *J Anim Sci*, 2010;93(11):5495-5502.
17. Akçay A, Akyüz B, Bayram D. Determination of the AluI polymorphism effect of bovine growth hormone gene on carcass traits in Zavot cattle with analysis of covariance. *Turk J Vet Anim Sci*. 2015;39:16-22. doi:10.3906/vet-1404-29.
18. Molee A, Poompramun C, Mernkrathoke P. Effect of casein genes - beta-LGB, DGAT1, GH, and LHR - on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. *Genetics and Molecular Research*, 2015;14(1):2561-2571.

19. González-Peña D, Guerra D, Evora JC, Portales A, Ortiz J, González S. Heredabilidad y tendencia genética de la producción de leche y grasa en vacas Siboney de Cuba. *Ciencia y Tecnología Ganadera*. 2009;3(1):27-32.
20. Suárez MA, Zubizarreta I, Pérez T. Interacción genotipo ambiente en ganado bovino Siboney de Cuba. *Livestock Research for Rural Development*, 2009;21(9). Disponible en: <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd21/9/suar21139.htm>
21. Hernández A, de León RP, Guerra D, García SM, Guzman G, Mora M. Interacción genotipo ambiente para producción de leche en ganado Mambí de Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 2012;46(4):351-56.
22. Hernández A, Ponce de León R, García S, García R, Mora M. Parámetros genéticos en rasgos de la producción lechera y la longevidad de vacas Mambí de Cuba. *Archivos de Zootecnia*. 2011;60(231):513-520.
23. Rodríguez Y, Guerra D. Evidencia de interacción genotipo-ambiente para peso final en prueba de comportamiento en el Cebú Cubano. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 2013;47(1):13-17.
24. Montaldo H, Castillo-Juárez H, Valencia-Posadas M, Cienfuegos-Rivas E, Ruiz-López F. Genetic and environmental parameters for milk production, udder health, and fertility traits in Mexican Holstein cows. *J Anim Sci*. 2010;93(5):2168-2175.
25. Gharahveysi S, Irani M, Abdollahpour R, Kalashi Z. Use of the random regression model for the genetic parameters estimation of milk yield in a Holstein cows herd. *Eur J Exp Biol*. 2012;2(6):2107-2112.
26. Rahmatalla SA, Müller U, Strucken EM, Reissmann M, Brockmann GA. The F279Y polymorphism of the GHR gene and its relation to milk production and somatic cell score in German Holstein dairy cattle. *J Appl Genet*. 2011;52(4):459-465.
27. Tsiaras AM, Bargouli GG, Banos G, Boscós CM. Effect of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin Loci on Milk Production Traits and Reproductive Performance of Holstein Cows. *J Anim Sci*. 2005;88(1):327-334.
28. Brym P, Kamiński S, Wójcik E. Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. *J Appl Genet*. 2005;45(2):179-185.
29. Gurcan, EK. Association between milk protein polymorphism and milk production traits in Black and White dairy cattle in Turkey. *Afr J Biotechnol*. 2011;10(6):1044-1048.
30. Visker MHPW, Dibbits BW, Kinders SM, Van Valenberg HJF, Van Arendonk JAM, Bovenhuis H. Association of bovine β -casein protein variant I with milk production and milk protein composition. *Anim Genet*. 2011;42(2):212-218.
31. Glantz M, Lindmark Månsson H, Stålhammar H, Paulsson M. Effect of polymorphisms in the leptin, leptin receptor, and acyl-coenzyme A:diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) genes and genetic polymorphism of milk proteins on cheese characteristics. *J Anim Sci*. 2011;94(7):3295-3304.

Recibido: 20-6-2016.

Aceptado: 7-10-2016.