



CONFERENCIA N° 17

PERSPECTIVA DE LA GENÉTICA MOLECULAR EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO

José Atilio Aranguren-Méndez; Yenen Villasmil; Luis
Yáñez; Rafael Román

Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Genética.
Laboratorio de Genética Molecular

atilioaranguren@icnet.com.ve

Maracaibo, septiembre de 2008

INTRODUCCION

La Genética Molecular (GM) es una rama de la genética que se encarga del estudio de los mecanismos de la herencia relacionado con el estudio de las estructuras químicas y procesos de fenómenos biológicos a nivel molecular. Esto incluye la comprensión de la base molecular de procesos genéticos desde una óptica multidisciplinaria, que comprende entre otras las o áreas de la Bioquímica, Genética y la Biofísica, en conjunto con la Estadística.

Dentro de la producción animal utilizamos la biología molecular como ciencia centrada en el estudio de las macromoléculas que son esenciales para la vida, pero desde una perspectiva de producción de alimentos para consumo humano. Esto a su vez como base para resolver problemas biológicos con el propósito de mejorar la eficiencia de producción. Sin embargo, la industria pecuaria constantemente experimenta cambios en sus prioridades de investigación las cuales son influenciadas por problemas de la industria como por ejemplo: calidad del producto, percepción pública respecto a la seguridad de los alimentos, entre otros.

Durante los últimos años en el mundo, la genética o mejora animal ha tomado un gran auge, debido en primer lugar a la obtención de genotipos mejorados (razas y grupos raciales nuevos) y adaptados a medios ambientes específicos tales como el trópico o subtrópico americano; y en segundo lugar, por el vertiginoso avance que la GM ha tenido, producto del estudio sobre el genoma humano y su beneficio para la ciencia animal.

Cada día, la GM se va posicionando como una herramienta necesaria, en los programas de mejoramiento animal y van apareciendo nuevos marcadores de ADN que son relacionados con características productivas, lo cual evidentemente contribuyen en mejorar tanto la eficiencia como la intensidad de la selección y ello repercute en el rendimiento y la calidad de la leche o carne; mientras que, marcadores de enfermedades genéticas son detectados y nos proveen un medio

útil, sencillo y rápido para el control y la erradicación de las mismas en las poblaciones de especies domésticas, así como la determinación de la pureza racial y de relaciones filogenéticas en ejemplares de interés comercial y animales afectivos.

De esta manera podemos indicar que la GM repercute y lo seguirá realizando por muchos años, en el avance de la producción y la salud animal y conjuntamente con los procedimientos estadísticos de actualidad nos hace posible identificar y utilizar la variación genómica para lograr la mejora genética del ganado. Desde el punto de vista molecular, esta variación denominada “polimorfismo” se deriva de cambios espontáneos en el ADN genómico, midiéndose a través de diferentes técnicas disponibles y pudiéndose en la actualidad determinarse desde la substitución de un simple nucleótido que representa el tipo más común de mutación y que puede ser detectado a través del estudio y análisis de los polimorfismos de base única (SNP), hasta la identificación de mutaciones que involucren mayores números de sitios nucleotídicos.

Para todos estos estudios, ha sido de gran importancia el desarrollo de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual no es mas, que una reacción enzimática catalizada por una ADN polimerasa, que permite la amplificación o reproducción *in vitro* de grandes cantidades de una región particular del ADN a partir de una pequeña cantidad original de ADN molde (Figura 1). La enzima polimerasa requiere para ello, contar con un par de oligos denominados iniciadores o *primers*, cuyas secuencias son complementarias a la de las regiones flanqueantes 5' y 3' del segmento particular de ADN que se aspira amplificar.

LA GENÉTICA MOLECULAR COMO HERRAMIENTA DE MEJORA ANIMAL

Anteriormente, el mejoramiento animal por la vía genética era la estrategia más efectiva para modificar los niveles de producción en los animales; sin

embargo, la tasa de progreso genético era muy lenta comparada con otros métodos no genéticos, tales como, la nutrición animal, en la cual los incrementos de niveles productivos se aprecian mas rápidamente; no obstante, el avance por la vía genética es de orden permanente y acumulativo en el tiempo. Hoy en día, gracias a los avances científicos obtenidos, ese mejoramiento de índole genético se puede lograr en una forma más rápida si aplicamos eficientemente una combinación de biotecnologías reproductivas y la genética molecular.

Tradicionalmente en la genética animal se ha utilizado el fenotipo del animal (Ej. producción de leche, producción de carne o reproducción) en un esfuerzo para predecir su contenido genético o “genotipo” y con la meta de realizar selección para lograr cambios permanentes en el fenotipo poblacional. Sin embargo, hoy día se utiliza el genotipo para predecir y estudiar el fenotipo y seleccionar animales con base a su genotipo para hacer cambios permanentes en el fenotipo. Todo esto como resultado del desarrollo y utilización de herramientas (técnicas) de biología molecular, lo cual ha permitido la identificación y caracterización de genes asociados con características de importancia económica en producción animal.

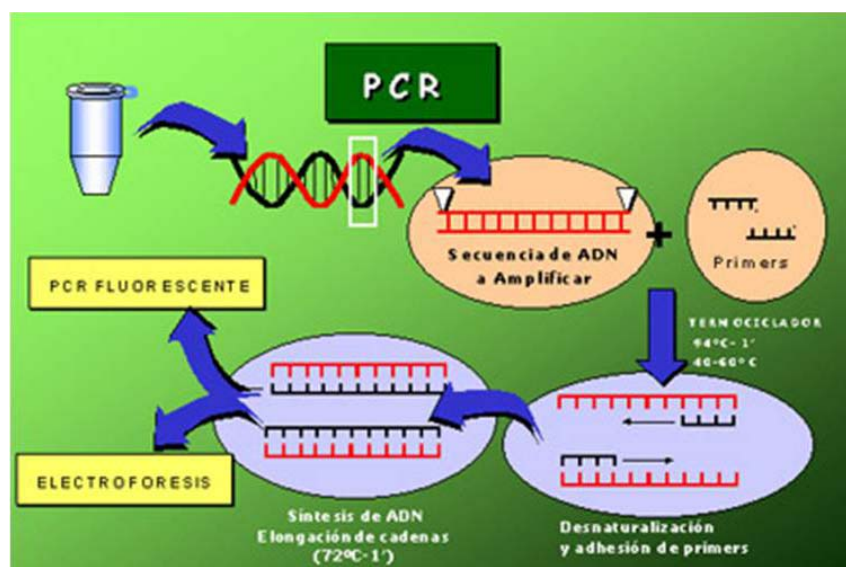


Figura 1. Esquema de la síntesis de ADN mediante la técnica PCR.

Para tomar en cuenta las potencialidades de la GM en el mejoramiento animal, debemos iniciar sabiendo que el genoma de los animales domésticos cuenta con aproximadamente de 3×10^9 pares de bases (pb), de los cuales cerca del 50% está compuesto por secuencias o regiones repetitivas, y de este cabe destacar que casi un cuarto son altamente repetitivas. El rol biológico de estas regiones no está aun determinado, a pesar de que se le asignan algunas funciones principalmente de sostén o espaciadores (satélites). El resto del genoma, es decir el otro 50% está compuesto por genes de copias únicas y de funciones ahora conocidas.

Es así, que dentro del campo de la producción animal, la biotecnología genética depende casi exclusivamente de los denominados marcadores genéticos moleculares. Dichos marcadores se clasifican en: marcadores moleculares específicos de genes o cromosomas, los cuales permiten identificar, sexar embriones y detectar enfermedades como el BLAD (deficiencia bovina de adhesión leucocitaria), y los marcadores anónimos, principalmente representados por los microsatélites, los cuales son abundantes en los animales domésticos y se han venido utilizando ampliamente para la identificación individual, prueba de paternidad, genética de poblaciones, construcción de mapas de ligamiento y otros análisis genéticos. La información originada de estos estudios moleculares está siendo incorporada en muchos programas de cría animal, entre los cuales se cita la selección asistida por marcadores, la introgresión de genes y la conservación asistida por marcadores.

La perspectiva del uso de la mejora mediante la GM, en el trópico americano, pasa por saber que los rebaños bovinos en su mayoría están conformados por animales producto de cruzamientos entre razas taurinas (*Bos taurus*) y cebuínas (*Bos indicus*), obedeciendo a una limitación de tipo ambiental y como una respuesta de los ganaderos a obtener animales más productivos y rentables en estos ambientes.

Dado que el fenotipo es producto de una interacción entre el genotipo y el ambiente, estos cruzamientos surgen como una respuesta a la necesidad creada por la inadaptación del genotipo exótico taurino en condiciones de pureza, ampliamente demostrada en los ambientes tropicales. Adicionalmente, dichos cruzamientos, obedecen a una estrategia para incrementar los niveles de producción, ya que los cruces *taurus-índicus* en estas regiones constituyen la vía más expedita para mantener en los rebaños efectos genéticos aditivos y heteróticos, tanto para la producción de leche, como de carne.

En el país, el escenario es bastante similar, ya que a pesar de contar con un rebaño criollo nacional, que presenta excelente adaptación al medio, no es menos cierto, que muestra disminuidas tasas de crecimiento y de producción láctea; razón por la cual, se han venido realizando cruces entre razas taurinas (Holstein y/o Pardo Suizo), con el objetivo principal de incrementar los niveles de producción de las razas mejor adaptadas, bien sean cebuínas (Brahman, Gyr) y/o locales (Criollo Limonero, Carora), generando lo que se conoce a lo interno el ganado mestizo o doble propósito.

En la actualidad la ganadería de doble propósito conforma más del 60% del rebaño nacional y cerca del 95% de cabezas en la región occidental del país, las cuales aportan a su vez 90% de la producción láctea y el 45% de la carne a nivel nacional, llegando a ser declarada rubro bandera por las políticas del gobierno nacional. Comúnmente la ganadería de doble propósito en Venezuela se asocia a un tipo de animal bovino, del cual se obtiene una doble producción: leche y carne, por lo cual, cuando se habla de mejoramiento de este tipo de ganado, pasa por considerar estos dos rubros productivos.

Genética molecular asociada a la producción láctea.

En lo referido a la producción láctea o bien el sector de la industria lechera, debido a que es producto del alto valor nutricional, ha sido foco de atención en la producción animal desde el mismo momento de la domesticación de las especies

y si se quiere, se ha constituido el líder de los estudios en la producción animal, ya que ha aprovechado los frutos de las nuevas técnicas biotecnológicas (GM), lo que evidentemente en un futuro próximo contribuirá indudablemente a lograr un aumento de la producción de leche a nivel mundial.

Con respecto a características relacionadas con la producción de leche y su calidad, podemos indicar a manera de información general, que la gran mayoría de estudios científicos han estado dirigidos al polimorfismo de las proteínas lácteas (Tabla 1) y su aplicación en la producción animal; de las mismas, han resultado de especial interés los efectos de las proteínas: capa caseína (KCN) y la beta-lactoglobulina (LGB), debido a que han demostrado estar claramente asociadas con el comportamiento de la lactación e influyen la composición de la leche, sus propiedades en el procesamiento tecnológico, incluyéndose aquí la producción de queso.

La KCN fue la última de las proteínas lácteas a la que se le estudio su polimorfismo; no obstante, esta proteína es la que más estudios ha presentado, dado que, algunas de sus variantes ejercen efectos importantes sobre las propiedades tecnológicas de la leche en especial para la fabricación quesera. Se indica que los individuos con genotipo BB para este locus presenta mayores porcentajes proteicos, mejores propiedades de coagulación, mejores efectos sobre la sinéresis del queso, teniendo en consecuencia de un 5 a 10% de mayor rendimiento.

La KCN es esencial para la formación y estabilización de las micelas y tiene un efecto importante sobre las propiedades de la leche. Para la formación del cuajo en la producción del queso, es necesaria la digestión de la KCN, produciéndose la precipitación de las micelas. Se han encontrado cerca de 11 variantes, sin embargo, las más comunes resultan ser los alelos A y el B, ya que son encontrados en la mayoría de las razas bovinas en proporciones intrínsecas variables y que permiten hacer selección por esta característica. El alelo A ha sido

encontrado de forma mas frecuente en las razas altas productoras de leche tales como: Holstein, Friesian, Ayrshire, Roja Danes y Cebú Indico. Mientras que, la variante B, en cambio, es mas frecuente en las razas Jersey, Normando y Cebú Africano. Ambas variantes presentan 169 residuos y un peso molecular de 19.007 KDa. Presentándose su diferencia a nivel nucleotidico, mediante las secuencias de aminoácidos porque el alelo A tiene Treonina en la posición 136, codificado por la tripleta ACT y Aspartato en la posición 148, codificado por la tripleta GAT; mientras que el alelo B, presenta Isoleucina codificada por la tripleta ATT y Alanina codificada por la tripleta GCT en las mismas posiciones antes mencionadas.

Tabla 1. Proteínas lácteas bovinas y algunas de sus propiedades.

Proteína (Abrev. Sugerida)	Composición (g/L)	Alelos	Peso Molecular	Punto Iso-iónico	Punto Iso-eléctrico
α_{s1} -Caseína (CSN1S1)	12–15	B C	23.615 23.542	4,92–5,05 5,00–5,35	4,44–4,76
α_{s2} -Caseína (CSN1S1)	3–4	A	25.226
β -Caseína (CSN2)	9–11	A ¹ A ² B	24.023 23.983 24.092	5,41 5,30 5,53	... 4,83–5,07 —
κ -Caseína (CSN10)	2–4	A B	19.037 19.006	5,77 (5,35) 6,07 (5,37)	5,45–5,77 5,3–5,8
β - Lactoglobulina (LGB)	2–4	A B	18.363 18.277	5,35 5,41	5,13 5,13
α - Lactoalbumina (LALBA)	0,6–1,7	B	14.178	—	4,2–4,5

Varios estudios han descrito que el genotipo BB de la KCN determina unas mejores propiedades de la leche para la producción de queso. En particular, este genotipo ha sido asociado con un cuajo más firme, una reducción del tiempo

necesario para la formación del cuajo y un incremento en el rendimiento en la producción de queso. Pudiéndose indicar que aquellas vacas con el genotipo BB de la KCN producen 173 kg de leche menos que las AA; sin embargo, esas mismas vacas BB producen 0,08 % mas proteínas lácteas, lo cual se traduce en un rendimiento quesero que puede ir de 5 a 10% en comparación con las vacas AA. Los resultados de estas investigaciones han establecido que el alelo B de la KCN bovina se encuentra asociado con propiedades favorables de la coagulación, altos niveles de caseína (κ -caseína).

Por otro lado, podemos indicar, que la LGB es la proteína sérica más abundante en la leche de los rumiantes y está presente además en diferentes leches de diversas especies, tales como el perro, el gato, cerdo, caballo, burro y el delfín. No se ha detectado LGB en los roedores, ni en la mujer aunque si se ha detectado en algunos primates. Es considerada la primera proteína láctea estudiada cerca de los años 50', donde se observó por electroforesis dos distintas bandas de esta proteína, las cuales llamaron β_1 y β_2 . Está formada por una sola cadena de 162 aminoácidos, con un peso molecular de unos 18.400 KDa. Su secuencia se conoce desde 1976. En la leche de los rumiantes la proteína nativa se encuentra formando dímeros, lo que le confiere propiedades de unión a diferentes moléculas hidrofóbicas.

La función de la LGB no se ha establecido todavía con seguridad, aunque probablemente, al menos en el caso de los rumiantes, se trata de una proteína transportadora de ácidos grasos, que ejerce su función en el tubo digestivo del lactante. En la actualidad, existen 12 variantes conocidas. De ellas, las variantes A y B están difundidas en la mayoría de las razas, el alelo C no es un alelo común y fue encontrado en la raza Jersey (Australiana y Alemana), mientras que, la variante D fue observada en otras razas (Simmental, Italian Brown, Reggiana, Modenese, Modicana, Rendena) y las variantes E, F, y G hasta ahora sólo han sido halladas en Bali (Banteng), *Bos javanicus*. No obstante al igual que la KCN,

los alelos más comunes son los A y B, que difieren en dos aminoácidos. La variante A tiene una valina en la posición 118, y un aspártico en la posición 64, mientras que la variante B tiene, alanina y glicina, respectivamente.

De los distintos alelos, el genotipo AA se ha asociado con una mayor cantidad de proteína total, por lo que, la leche de los animales portadores de estos alelos tienen una mayor capacidad quesera, debido a que producen mas caseínas y menos BLG. Esto es bastante importante en la industria quesera, puesto que las caseínas se retienen en el coágulo que forma el queso, por lo tanto, el parámetro más importante para determinar la capacidad quesera de la leche es la proporción de caseínas y β -lactoglobulina.

Genética molecular asociada a la producción de carne.

Otro de los productos de la ganadería doble propósito lo constituye la producción de carne, destacando que una de las limitaciones del ganado mestizo está representada en la baja calidad de la canal. En este aspecto en la ganadería especializada, se han venido desarrollando investigaciones sobre detección de QTLs, encontrándose por ejemplo hasta cinco genes candidatos para características de carne que podrían ser objeto de estudios en el país; dos de ellos están relacionados con las características de la canal [Leptina y Tiroglobulina (TG)] y tres para la calidad de la carne (Calpaina, Calpastatina y Miostatina).

La leptina es una hormona sintetizada en los adipositos, involucrada en la regulación del apetito, repartición de energía y acumulo de grasa. Los niveles de esta hormona en sangre han sido relacionados con cambios en las características de la canal. Mientras que, el gen de la TG es una proteína que codifica a una glicoproteína precursora de la hormona tiroidea y se encuentra asociada con los niveles de marmoleo (infiltración de grasa intramuscular) en bovinos, existiendo en la actualidad para ambos genes pruebas diagnósticas comerciales (Figura 2).



Figura 2. Imagen de carne marmoleada (infiltración de grasa intramuscular).

La ternura o suavidad de la carne es uno de los factores más importantes que determinan la satisfacción del consumidor. La jugosidad y el sabor son también importantes, pero existe mayor variabilidad en la ternura de la carne. Con respecto a los genes ligados a la calidad de la carne, existen dos marcadores disponibles comercialmente (la Calpaina y la Calpastatina). El gen de la μ -calpaina, el cual fue ubicado muy próximo al QTL detectado para resistencia al corte de la carne ubicado en el cromosoma 29. Dentro de los factores bioquímicos y genéticos que se han identificados como responsables del ablandamiento de la carne se encuentra el sistema proteolítico de las calpainas. La proteasa activada con niveles de micromolares de calcio (μ -Calpaina) y la proteasa activa con niveles micromolares de calcio (i-Calpaina), son las dos enzimas responsables del ablandamiento postmortem, aunque se ha indicado que la i-Calpaina es la principal enzima responsable de este proceso; mientras que la Calpastatina es el inhibidor natural de las Calpainas en el sistema de proteólisis de la carne.

El gen de la calpastatina, se encuentra ubicado en el cromosoma 7 y se considera un gen candidato, también ha sido asociado significativamente con la calidad de la carne, ya que como comentamos en el párrafo anterior, es

considerada el inhibidor natural de las calpaínas; por lo que ambas proteínas están involucradas en el proceso de ablandamiento postmortem de la carne. De allí que la variación en los niveles de las proteínas calpaínas y calpastatina ha sido reconocida como la causa principal en las diferencias en terneza, entre razas del tipo *Bos taurus* y *Bos indicus*.

Otro gen investigado en ganado de carne es el gen de la miostatina, ha sido estudiado como candidato para el QTL encontrado en el cromosoma 2 a 4 cM del centrómero para las variables rendimiento en cortes, área del *longissimus*, espesor de grasa, grado de rendimiento y marmoleo (Figura 3). Este gen codifica un inhibidor del crecimiento muscular y la forma mutada del gen es responsable de la condición de doble musculatura mayormente presente en razas como la Belgian Blue, Charolesa y Piamontesa.

Formas alternas (alelos) de gen que codifica el factor de crecimiento para la insulina (IGF1), ubicado en la región del QTL del Cromosoma 5 para rendimiento, fue estudiado como posible gen candidato. En el mismo no se encontraron asociaciones entre los alelos de este gen y características del crecimiento en una población comercial de *Bos taurus*.



Figura 3. Imagen del efecto del gen de la Miostatina en la calidad de la carne

PROPUESTA DEL USO COMBINADO DE EVALUACIÓN GENÉTICA Y LOS MARCADORES EN PLANES DE SELECCIÓN DE GANADO LOCAL.

En la actualidad la selección de individuos de cualquier raza se realiza con base al mérito genético, el cual evalúa las diferencias esperadas de descendencia (DEP), las mismas son obtenidas de las mediciones de los pesos, reproducción, etc.; es decir de las medidas de variables fenotípicas de interés comercial. Estas medidas de valoración genética se calculan para aquellas características que son fáciles y con bajo costo de medición, como los pesos a diferentes edades o las ganancias de peso en diferentes períodos.

El objetivo nuestro es proponer coadyuvar este tipo de selección convencional, añadiendo la información molecular (selección asistida por marcadores) con el objeto de incrementar en la población la producción de animales de los genotipos deseados en las características de calidad de canal y de las proteínas lácteas, favoreciendo así los planes de mejora tanto la ganadería especializada de carne, como la de doble propósito. Por cierto, aunque en el país estos estudios son muy incipientes el uso de los indicadores bioquímicos o de marcadores moleculares, puede tener una aplicación particular en los planes de mejora del rebaño, donde su incorporación en los planes de mejoramiento podría incrementar el progreso genético sobre todo en caracteres que están limitados por el sexo, pudiéndose por lo tanto, seleccionar individuos (machos y hembras) sin tener que estar en producción para realizar su genotipado.

Para finalizar debemos indicar que necesitamos conocer y hacer un uso racional de las metodologías moleculares y simultáneamente realizar una optimización de los criterios de selección para aquellos genes que afectan el o los caracteres de interés en la población estudiada y se logrará obtener el máximo de los beneficios, cuando ambas técnicas (convencional y molecular) sean utilizadas en conjunto.

Podremos obtener un impacto adicional si el uso que actualmente hacemos de algunas de las llamadas biotecnologías reproductivas, tales como la inseminación artificial, el trasplante de embriones, la fertilización *in vitro* y todas las demás, es mediado por evaluaciones genéticas complementarias. Lo anterior pretende que el uso masivo e intensivo de ciertos reproductores en las poblaciones se justifique sobre una base sólida de evaluación genética y no en orden inverso, en todos aquellos aspectos que sea posible, lo cual incluye:

- ✓ La estimación de DEP's en aquellas características cuyo comportamiento se registra en las unidades de producción.
- ✓ La certificación citogenética de la normalidad cariotípica de los reproductores.
- ✓ Y por supuesto, el genotipado de las características que económicamente lo justifiquen.

REFERENCIAS

- Aranguren-Méndez, J.A., Jordana, J., Gomez, M. 2001. Genetic diversity in Spanish donkey breeds using microsatellite DNA markers. *Genetics Selection and Evolution*. (33): 433-442.
- Aranguren-Méndez, J.A.; Jordana, J.; Avellanet, R.; Torrens, M. 2002. Estudio de la variabilidad genética en la raza bovina Mallorquina para propósitos de conservación. *Revista Científica, FCV-LUZ*. XII, (5): 358-366.
- Aranguren-Méndez, J.; Gómez, M.; Jordana, J. 2002. Potencial de los Microsatélites para la asignación de individuos dentro de raza en poblaciones a ser conservadas. V Congreso de la Sociedad Española para los Recursos Genéticos Animales y III Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales. (SERGA & SPREGA). *El Arca*, (5): 37.
- Aranguren-Méndez, J.A.; Jordana, J.; Gómez, M. 2002. Genetic conservation of five endangered Spanish donkey breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* (119): 256-263.

- Aranguren-Méndez, J.A.; Gómez, M.; Jordana, J. 2002 Hierarchical analysis of genetic structure in Spanish donkey breeds using microsatellite markers. *Heredity* (89): 207-211.
- Aranguren-Méndez, J. 2004. El genotipo promisorio en la ganadería de doble propósito en Venezuela. *Memorias XII Congreso Venezolano de Producción Animal*. Maracay, 22-25/11, Edo. Aragua. Venezuela: 215-220 pp.
- Aranguren-Méndez, J., R. Román-Bravo, Y. Villasmil-Ontiveros, Z. Chirinos de Faria, J. Romero, E. Soto-Belloso. 2006. Componentes de varianza y parámetros genéticos para características de crecimiento en animales mestizos de doble propósito. *Rev. Cient. FCV-LUZ*. (1): 55-61.
- Aranguren-Méndez, J., L.F. Yáñez-Cuéllar. 2005a. Planifique los cruzamientos. En: C. González-Stagnaro y E. Soto Belloso (Eds.). *Manual de Ganadería Doble Propósito*. Ediciones Astro Data, S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. II (8): 119-124.
- Aranguren-Méndez, J., L.F. Yáñez Cuéllar. 2005b. El cuello de botella: El Mosaico. En: C. González-Stagnaro y E. Soto Belloso (Eds.). *Manual de Ganadería Doble Propósito*. Ediciones Astro Data, S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. II (8): 125-136.
- Cobucci, J.A., A. Oliveira, T. Goncalves. 1997. Parâmetros genéticos de características reproductivas em suínos híbridos- comparação de métodos usados na estimativa. In: *Memorias Reuniao Anual Sociedade Brasileira Zootecnia*, (34): 314-316.
- Formaggioni, P.; Summer, A.; Malacarne, M.; Mariano, P. 1999. Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* genus. URL <http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/formaggioni/formaggioni.htm>
- Guimaraes, J.E., P. Lopez, R. De Almeida., L. Campos, R. Euclides, C. de Araujo, C. Silva. 2004. Maternal effects on the genetic evaluation of Tabapuã beef cattle. *Genet. Mol. Biol.* 27 (4): 517-521.
- Hill, J. 1993. The relationship between β -lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76:281-286.
- Lara, M.; Gamma, L.; Bufarah, G.; Sereno, J.; Colegado, E.; Abreu, U. 2002. Genetic polymorphisms at the k-casein locus in Pantaneiro cattle. *Arch. Zootec.* 51: 99-105.

- Lopez, E.; Vasquez, N. 2004. Determinación del sexo y genotipificación del gen de la k-caseína en embriones bovinos. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 17: 231-240.
- Madalena, F. 2002. Cruces entre razas bovinas para la producción económica de leche. En: González-Stagnaro, C. (Ed). *Avances en la ganadería de doble Propósito*. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. IX: 135-148.
- Robinson, O.W. 1981. The influence of maternal effects on the efficiency of selection. *A review. Livest. Prod. Sci.* (8): 121-137.
- Rodríguez Almeida, F., L. Van Vleck, K.E. Gregory. 1997. Estimation of direct and maternal breed effects for prediction of expected progeny differences for birth and weaning weights in three multibred populations. *J. Anim. Sci.* 75:1203.
- Román-Bravo, R., J. Aranguren-Méndez., Y. Villasmil-Ontiveros, L.F. Yáñez Cuéllar, E. Soto-Belloso. 2007. Comparación de modelos para estimar parámetros genéticos de crecimiento en ganado mestizo doble propósito. *Rev. Cient. FCV-LUZ.* (4): 395-404.
- Soto-Belloso, E. 2004. La ganadería de doble propósito en Venezuela. *Memorias XII Congreso Venezolano de Producción Animal*. Maracay, 22-25/11, Edo. Aragua. Venezuela: 221-229.
- Tsiaras, A.; Bargouli, G.; Banos, G.; Boscos, C. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88:327-334
- Vaccaro, L., López, J. 2002. Resultados recientes de un proyecto de mejoramiento genético de bovinos doble propósito. En: González-Stagnaro, C. (Ed). *Avances en la ganadería de doble Propósito*. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. X: 127-134.
- Viana, J.L.; Fernández, A.; Iglesias, A.; Sanchez, L.; Becerra, J. 2001. Análisis de los genotipos más frecuentes de la k-caseína en la raza vacuna Rubia Galega mediante PCR/rflps. *Arch. Zootec.* 50: 91-96.
- Yáñez Cuéllar, L.F. 2005. Índices de selección: sugerencias para su utilización. En: C. González-Stagnaro y E. Soto Belloso (Eds.). *Manual de Ganadería Doble Propósito*. Ediciones Astro Data, S.A. Maracaibo-Venezuela. Cap. II (8): 125-134.