Caracterización genética de Kappa caseínas y Beta lactoglobulinas del bovino criollo de cuatro comunidades andinas del Perú

E. Veli¹ y E. Rivas^{1,2}

¹Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Perú. Av. La Molina № 1981. La Molina. Casilla № 2791, Lima 12, Perú; ²Jr. Sucre № 618, San Miguel. Lima 32, Perú

Resumen

En el Perú el bovino criollo cumple un rol importante en la vida de las comunidades altoandinas; es fuente de proteínas y fuerza de trabajo; su leche se comercializa como materia prima o es utilizada para la producción de queso en forma artesanal ("quesillo" o "cachipa"). Los reportes de caracterización molecular de proteínas lácteas en el bovino criollo peruano son escasos y en ausencia de programas de selección y mejoramiento, se está perdiendo la diversidad de ésta raza adaptada localmente, sin aprovechar mejor este recurso zoogenético. Se presentan los resultados de la caracterización genética de kappa caseínas (CSN3) y beta lactoglobulinas (BLG) en poblaciones de bovinos criollos de cuatro comunidades andinas del Perú. Las frecuencias alélicas de la población estudiada fueron: CSN3^A = 0,590, CSN3^B = 0,410, BLG^A = 0,400 y BLG^B = 0,600.

Palabras clave: bovino criollo, kappa caseínas, beta lactoglobulinas, frecuencias alélicas

Summary

In Peru criollo cattle play an important role in the lives of the communities of the high Andes; they are a source of protein and of labour; their milk is sold as raw material or used to produce cheese by traditional methods (*quesillo* or *cachipa*). Reports of molecular characterization of milk proteins in the Peruvian criollo cattle are scarce, and in the absence of selection and improvement programmes, the diversity of locally adapted criollo cattle is being lost, without greater advantage being taken of this animal genetic resource. The results of genetic characterization of kappa caseins (CSN3) and beta lactoglobulins (BLG) in four populations of criollo cattle from Andean communities in Peru are reported. Allelic frequencies were: CSN3^A = 0.590, CSN3^B = 0.410, BLG^A = 0.400 and BLG^B = 0.600.

Keywords: Criollo cattle, kappa caseins, beta lactoglobulins, allelic frequencies

Résumé

Au Pérou, les bovins Criollo jouent un rôle important dans la vie des communautés des hautes Andes: ils représentent une source de protéines et de main-d'œuvre; le lait est vendu en tant que matière première ou est utilisé pour la production artisanale de fromage («ques-illo» ou «cachipa»). Les rapports sur la caractérisation moléculaire des protéines du lait des bovins péruviens Criollo sont rares; en l'absence de programmes de sélection et d'amélioration, on est en voie de perdre la diversité des bovins Criollo localement adaptés, sans tirer aucun avantage de cette ressource zoogénétique. On présente ici les résultats de la caractérisation génétique des caséines kappa (CSN3) et des lactoglobulines béta (BLG) dans quatre populations de bovins Criollo des communautés andines du Pérou. Les fréquences alléliques de la population prise en considération étaient: CSN3^A = 0,590, CSN3^B = 0,410, BLG^A = 0,400 et BLG^B = 0,600.

Mots-clés: bovins Criollo, caséines kappa, lactoglobulines béta, fréquences alléliques

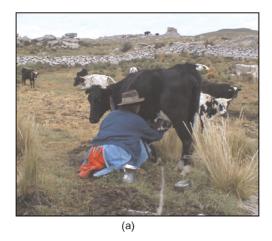
Presentado: 18 Mayo 2009; aceptado: 16 Junio 2009

Introducción

La leche contiene seis proteínas principales de las cuales se conocen cuatro tipos de caseínas (representan un 80% del total de proteínas lácteas) y dos tipos de proteínas del suero (representantes del 20% restantes) (Swaisgood,

Correspondence to: E. Rivas Seoane, Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Perú. Av. La Molina N° 1981. La Molina. Casilla N° 2791, Lima 12. Perú. email: l.rivasseoane@gmail.com

1992). A nivel molecular se han determinado seis variantes alélicas del gen kappa caseína (CSN3) de carácter codominante, codificadas por genes autosómicos (Formaggioni *et al.*, 1999; Threadgill and Womack, 1990); el genotipo BB del gen CSN3 está relacionado con mejor aptitud de la leche para la producción de queso, asociándose con las características del cuajo (mayor firmeza, menor tiempo de formación), incrementando el rendimiento en la producción de queso (Ng-Kwai-Hang, 1998).



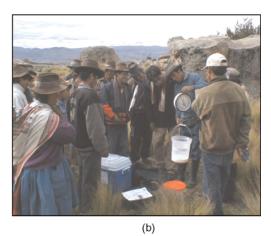


Figura 1. Actividades de pobladores de una comunidad altoandina con bovinos criollos: (a) Ordeño de vaca criolla por método manual en un corral de piedras; (b) Pobladores realizando el control de producción lechera de sus vacas criollas.

Por otro lado, las proteínas del suero son aquellas que permanecen en disolución tras la precipitación ácida de las caseínas y coagulación enzimática; entre éstas, las beta lactoglobulinas (BLG) están controladas cada una por un único locus en genes autosómicos y se han reportado 12 variantes alélicas para este gen, siendo A y B las variantes más frecuentes en los bovinos domésticos (Grosclaude, 1988). En algunas razas bovinas se ha evidenciado un efecto de los alelos del gen BLG sobre la composición de la leche y por ende sus propiedades de procesamiento, incluyendo el rendimiento quesero (Sabour et al., 1993; Ripoli et al., 2003): el alelo A de este gen (BLGA) está relacionado con una mayor producción de leche y proteína, mientras que el alelo B (BLG^B) se asocia con un alto porcentaje de grasa (Bobe et al., 1999; Ikonen et al., 1999) y un mayor rendimiento quesero al elevar la síntesis de caseínas sobre las proteínas del lacto suero (Bobe et al., 1999; Lunden et al., 1997).

En el Perú el bovino criollo ("chusco"), adaptado a los diversos ecosistemas, cumple un rol importante en la vida de las comunidades altoandinas (Figura 1); es fuente de proteínas, fuerza de trabajo y cotidianamente en estas comunidades se vende el queso producido de forma artesanal, (Rivas et al., 2007). En los bovinos criollos los trabajos de caracterización molecular de proteínas lácteas son escasos (Veli et al., 2004) y en ausencia de programas de selección y mejora para este recurso zoogenético naturalizado, se está perdiendo el potencial que significa sus adaptaciones locales y facilidad para aprovechar mejor los recursos presentes en los ecosistemas a los cuales se ha adaptado (Rivas et al., 2007).

En el marco de las actividades de investigación y caracterización de recursos zoogenéticos de la Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología (SUDIRGEB) del INIA, se identificaron animales criollos en cuatro comunidades de Junín. Presentamos los resultados del genotipado de 108 bovinos criollos para dos proteínas lácteas (kappa caseínas y beta lactoglobulinas), usando la técnica molecular PCR-RFLP.

Materiales y Métodos

Se colectaron muestras de sangre periférica (vena caudal) de 108 bovinos criollos de las comunidades campesinas (CC) de Saños Grande (16), Panti (29), Occoro (28) y Huasapa (35), donde se manejan de forma tradicional (Figura 1). En la Figura 2 se muestra el mapa de las zonas de colecta y en la Tabla 1 los datos de ubicación geográfica.

Genotipado de proteínas lácteas

El material colectado fue procesado en el Laboratorio de Biología Molecular de la SUDIRGEB–INIA. Se extrajo el ADN a partir de linfocitos aislados de muestras de sangre entera con el protocolo de Veli *et al.* (2004). La amplificación de ADN y la digestión del producto amplificado, para la determinación de los genotipos de CSN3 y BLG, se realizaron usando el protocolo descrito por Poli y Medrano (1997).

Kappa caseínas (CSN3)

Para la amplificación del gen CSN3 se utilizaron los primers JK3 y JK5; los amplicones fueron digeridos con la endonucleasa de restricción HinfI (Fermentas). La reacción estándar de PCR de volumen final 25 µL en tubos 0,2 mL contenía 2 μL de ADN (40 ng/μL) y mezcla de reacción compuesta por: 2,5 μL buffer 10X, 1,5 μL MgCl₂ (25 mM), 0,125 μL Taq polimerasa (5 U/μL), 2,5 μL dNTPs (1 mM), 0,25 μL de cada primer (10 µM) y H2O libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron: una fase de desnaturalización de 94 °C por 3 minutos; 35 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 60 °C por 60 segundos y 72 °C por 60 segundos (termociclador MJ Research PTC-200). La mezcla de digestión enzimática del producto amplificado se incubó por 2 horas a 37 °C y estuvo compuesta por: 15 µL de ADN amplificado, $0.6 \mu L$ de HinfI ($10 U/\mu L$), $2.25 \mu L$ de Buffer R y $4.65 \mu L$ de H₂O libre de nucleasas.

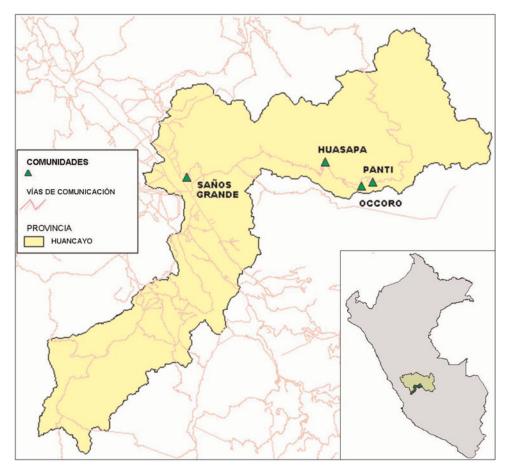


Figura 2. Ubicación georeferenciada de las zonas de muestreo de bovinos criollo de Junín, Perú.

Beta lactoglobulinas (BLG)

Para la amplificación gen BLG se utilizaron los primers BLGP3 y BLGP4; los amplicones fueron digeridos con la endonucleasa de HaeIII. La reacción estándar de PCR de volumen final 25 μ L en tubos 0,2 mL contenía 2 μ L de ADN (40 ng/ μ L) y mezcla de reacción compuesta por: 2,5 μ L buffer 10X, 1,5 μ L MgCl₂ (25 mM), 0,125 μ L Taq polimerasa (5 U/ μ L), 2,5 μ L dNTPs (1 mM), 0,75 μ L de cada primer (10 μ M) y H₂O libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron: una fase de desnaturalización de 94 °C por 3 minutos; 35 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 60 °C por 60 segundos y 72 °C por 60 segundos (termociclador MJ Research PTC-200). La mezcla de digestión enzimática del producto amplificado se incubó por 2 horas a 37 °C y estuvo compuesta por: 15 μ L ADN amplificado, 0,36 μ L de HaeIII

(10 U/ μ L), 2,25 μ L de Buffer R y 4,65 μ L de H₂O libre de nucleasas.

Electroforesis de los fragmentos de restricción

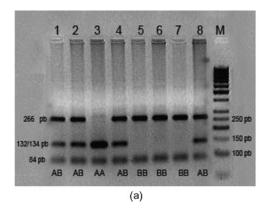
Los fragmentos digeridos con las enzimas de restricción, en ambos casos, fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 3% y visualizados en un transiluminador UV. La lectura de geles se realizó calculando el tamaño de alelos tomando como referencia la migración de fragmentos de un marcador de 50 pb (Fermentas).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de la variabilidad genética se calcularon frecuencias alélicas y genotípicas y el equilibrio

Tabla 1. Ubicación georeferenciada de las zonas de muestreo en las comunidades campesinas de Junín, Perú.

Comunidad Campesina	Provincia	Distrito	Ubicación georeferenciada			
			Latitud	Longitud		
Saños Grande	Huancayo	El Tambo	12° 01′ 7.716″	75° 13′ 30.468″		
Panti	Huancayo	Pariahuanca	12° 01′ 50.03″	74° 46′ 44.3″		
Occoro	Huancayo	Pariahuanca	12° 02′ 26.41″	74° 48′ 23.87″		
Huasapa	Huancayo	Pariahuanca	11° 58′ 59.95″	74° 53′ 34.15″		



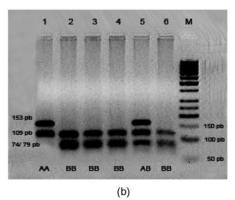


Figura 3. Variantes alélicas para los genes de kappa caseína (a) y beta lactoglobulina (b) en geles de agarosa.(a) En los carriles 1, 2, 4 y 8 se muestran las formas heterocigotas AB para el gen kappa caseína (CSN3^{AB}); el carril 3 corresponde a la forma homocigota AA (CSN3^{AA}) y las posiciones 5, 6 y 7 a homocigotas BB (CSN3^{BB}). El alelo A está representado por fragmentos de 132/134 y 84 pb; el alelo B por 266 y 84 pb; M = marcador 50 pb. (b) En el carril 5 se muestra la forma heterocigota AB para el gen beta lactoglobulina (BLG^{AB}); el carril 1 corresponde a la forma homocigota AA (BLG^{AA}) y las posiciones 2, 3, 4 y 6 a homocigotas BB (BLG^{BB}). El alelo A está representado por los fragmentos 153 y 109 pb y el alelo B por 109 y 74/79 pb; M = marcador 50 pb.

de Hardy-Weinberg (H-W) utilizando el software GenAlex v6.2 (Peakall & Smouse, 2006).

Resultados y discusión

En las kappa caseínas, el producto amplificado y digerido con la endonucleasa de restricción HinfI generó tres fragmentos: uno de 266 y 84 pb (presente en alelo CSN3^B), otro de 132/134 y 84 pb (presentes en el alelo CSN3^A) y en la variante heterocigoto los fragmentos de 266, 132/134 y 84 pb (Figura 3a). En las beta lactoglobulinas, el producto amplificado y digerido con la endonucleasa de restricción HaeIII generó tres fragmentos: uno de 109 y 74/79 pb (presentes en el alelo BLG^B), otro de 153 y 109 pb (presentes en el alelo BLG^A) y en la variante heterocigoto los fragmentos 153, 109 y 74/79 pb (Figura 3b).

Kappa caseínas

En la Tabla 2 se muestran los valores de heterocigosidad, frecuencias genotípicas y alélicas para el gen CSN3 encontrados en las poblaciones de bovinos criollos de Junín. La heterocigosidad observada (Ho) en la población total fue del 0,46; en la comunidad de Panti se encontró la mayor

Ho (0,55), mientras que en Occoro se encontró una menor Ho (0,36).

En relación a las frecuencias genotípicas en la población total, se encontró mayor frecuencia de heterocigotos (CSN3^{AB} = 046); la frecuencia de homocigotos CSN3^{AA} fue mayor con respecto a los homocigotos CSN3^{BB} (0,36 y 0,18, respectivamente); sin embargo, las poblaciones de bovinos criollos se encontraron en equilibrio H-W.

En cuanto a las frecuencias alélicas, en la población total la frecuencia del alelo CSN3^A fue mayor (0,59) con respecto a la del alelo CSN3^B (0,41). A nivel de comunidades, las frecuencias del alelo CSN3^A en Huasapa y Occoro fueron similares (0,63 y 0,61, respectivamente) y superiores a las poblaciones de Panti y Saños Grande (0,55 y 0,56, respectivamente). En la Tabla 3, se muestran las frecuencias alélicas para el gen CSN3 en otras poblaciones de bovinos criollos. Las frecuencias alélicas encontradas en la población de Junín, Perú, fueron similares a las reportadas por Ripoli et al. (1999) para los bovinos criollos Argentinos. Sin embargo, Poli et al. (2005) reportan un incremento en las frecuencias del alelo CSN3^A para las poblaciones actuales de bovinos criollos de Argentina, coincidiendo con las frecuencias de los bovinos criollos de Cuba (Uffo et al., 2006) y Colombia (Naranjo et al., 2007). La frecuencia del alelo CSN3^B en la población

Tabla 2. Heterocigosidad, frecuencias genotípicas y alélicas del gen CSN3 en bovinos criollos de Junín, Perú.

Comunidad Campesina	N° Animales	Frecuencias genotípicas				Frecuenci	H-W	
		CSN3 ^{AA}	CSN3 ^{BB}	CSN3 ^{AB}				
				Но	Не	CSN3 ^A	CSN3 ^B	
Saños Grande	16	0,38	0,25	0,38	0,49	0,56	0,44	N.S.
Panti	29	0,28	0,17	0,55	0,49	0,55	0,45	N.S.
Occoro	28	0,43	0,21	0,36	0,48	0,61	0,39	N.S.
Huasapa	35	0,37	0,11	0,51	0,47	0,63	0,37	N.S.
Total	108	0,36	0,18	0,46	0,48	0,59	0,41	

Tabla 3. Frecuencias alélicas para el gen CSN3 en diversas poblaciones de vacunos criollos.

País		encias icas	Referencia		
	CSN3 ^A	CSN3 ^B			
Argentina	0,585	0,415	Ripoli et al., 1999		
Argentina (actual)	0,700	0,300	Poli et al., 2005		
Colombia	0,680	0,320	Naranjo et al., 2007		
Cuba	0,700	0,300	Uffo et al., 2006		
Uruguay	0,510	0,490	Postiglioni et al., 2002		
Perú (Ayacucho)	0,370	0,630	Veli et al., 2004		
Perú (Junín)	0,590	0,410			

estudiada resultó superior a las frecuencias reportadas en los criollos de Argentina (Ripoli *et al.*, 1999; Ripoli *et al.*, 2005), Colombia (Naranjo *et al.*, 2007) y Cuba (Uffo *et al.*, 2006); pero inferiores a las reportadas en la población de bovinos criollos de Ayacucho, Perú (0,63) (Veli *et al.*, 2004) y del Uruguay (0,49) (Postiglioni *et al.*, 2002). Sería interesante y de utilidad para sentar las bases de un programa de selección de animales asistida por marcadores moleculares, correlacionar la información productiva de los animales portadores del alelo CSN^B dirigida a mejorar la aptitud de la leche para la producción de queso.

Beta lactoglobulinas

En la Tabla 4 se muestran los valores de heterocigosidad, frecuencias genotípicas y alélicas para el gen BLG encontradas en las poblaciones de bovinos criollos de Junín. En la población total, la Ho fue de 0,36. A nivel de comunidades, en Saños Grande se encontró mayor Ho (0,56) mientras que ésta fue menor para Occoro y Huasapa (0,29 para ambas comunidades).

La frecuencia genotípica en la población total resultó mayor para los homocigotos BLG^{BB} (0,42), seguida de los heterocigotos BLG^{AB} (0,36) y homocigotos BLG^{AA} (0,22). A nivel de comunidades, Occoro mostró la menor frecuencia de homocigotos BLG^{AA} (0,14), mientras que en Saños Grande la frecuencia de este mismo alelo fue mayor (0,38). La frecuencia de homocigotos BLG^{BB} en

Saños Grande fue menor (0,06) y en Occoro resultó mayor (0,57). De las cuatro poblaciones de bovinos criollos estudiadas, la de Huasapa no se encontró en equilibrio H-W.

Respecto a las frecuencias alélicas, en la población total se encontró que la frecuencia del alelo BLG^B (0,6) fue mayor que el alelo BLGA (0,40); a nivel de comunidades, Saños Grande presentó una mayor frecuencia para BLG^A (0,66), mientras que Occoro mostró una mayor frecuencia para BLG^B (0,71). En la Tabla 5 se muestran las frecuencias alélicas para el gen BLG en otras poblaciones de bovinos criollos. Las frecuencias alélicas para el gen BLG en la población bovina de Junín resultaron cercanas a las reportadas por Poli et al. (2005) en los bovinos criollos de Argentina y por Veli et al. (2008) en bovinos criollos de tres regiones del Perú; la población de criollos de Cuba (Uffo et al., 2006) muestra la mayor frecuencia del alelo BLG^B, mientras que en los bovinos criollos de Uruguay (Postiglioni et al., 2002) ambos alelos están en proporciones semejantes.

Resumen de los resultados

En las poblaciones de bovinos criollos de las comunidades andinas de Saños Grande, Panti, Occoro y Huasapa (Junín) se encontraron polimorfismos para los genes de kappa caseínas y beta lactoglobulinas. En las kappa caseínas se detectaron los fragmentos 132/134 y 84 pb correspondientes al alelo CSN3A y fragmentos de 266 y 84 pb correspondientes al alelo CSN3^B. En las beta lactoglobulinas se detectaron los fragmentos 153 y 109 pb correspondientes al alelo BLGA y los fragmentos 109 y 74/79 pb correspondientes al alelo BLG^B. A nivel de comunidades, Huasapa y Occoro mostraron frecuencias para CSN3^A similares entre si pero mayores a Panti y Saños Grande, similitud que puede estar relacionada con la cercanía entre estas comunidades. Las frecuencias alélicas para BLG^B resultaron similares en las poblaciones de Panti, Occoro y Huasapa; pero muy superiores a las de Saños Grande. Esto puede atribuirse al flujo de genes provenientes por cruzas con razas mejoradas en Saños Grande, debido a su cercanía a la capital de la provincia de Huancayo-Junín. Se confirma la presencia del alelo

Tabla 4. Heterocigosidad, frecuencias genotípicas y alélicas del gen BLG en bovinos criollos de Junín, Perú.

Comunidad Campesina	N° Animales	Frecuencias Genotípicas				Frecuencias Alélicas		H-W
		BLG ^{AA}	BLG^{BB}	BLG ^{AB}				
				Но	He	BLG^A	BLG^B	
Saños Grande	16	0,38	0,06	0,56	0,45	0,66	0,34	N.S.
Panti	29	0,17	0,41	0,41	0,47	0,38	0,62	N.S
Occoro	28	0,14	0,57	0,29	0,41	0,29	0,71	N.S
Huasapa	35	0,26	0,46	0,29	0,48	0,40	0,60	N.S
Total	108	0,22	0,42	0,36	0,48	0,40	0,60	

Tabla 5	Frecuencias	alélicas	para	el	gen	BLG	en	diversas
poblacio	nes de bovinos	criollos.						

País	Frecuencia	as alélicas	Referencia		
	BLG ^A	BLG ^B			
Argentina	0,360	0,640	Poli et al., 2005		
Uruguay	0,490	0,510	Postiglioni et al., 2002s		
Cuba	0,300	0,700	Uffo et al., 2006		
Perú	0,22-0,45	0,55-0,78	Veli et al., 2008		
Perú (Junín)	0,400	0,600			

CSN3^B en frecuencias superiores a 0,37 y del alelo BLG^B con frecuencias superiores a 0,34 en las poblaciones de bovinos criollos de Junín. Se recomienda correlacionar esta información con datos productivos de las vacas criollas a fin de evidenciar algún efecto sobre la composición lechera y asociarla con el rendimiento quesero, lo que permitirá seleccionar animales para realizar mejoramiento genético para el carácter rendimiento quesero.

Lista de Referencias

- Bobe, G., Beitz, C., Freeman, A.E. & Lindberg, G.L. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *Journal of Dairy Science*, 82: 2797–2804.
- Formaggioni, P., Summer, A., Malacarne, M. & Mariani, P. 1999.

 Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* genus. http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/formaggioni/formaggioni.htm
- Grosclaude, F. 1988. Le polymorphisme génétique des principales lactoproteins bovines. INRA Productions Animales, 1: 5–17.
- **Ikonen, T., Ojala, M. & Ruottinen, O.** 1999. Associations between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Science*, 82: 1026–1033.
- Lunden, A., Nilsson, M. & Janson, L. 1997. Marked effect of B-lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein total protein in milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, 80: 2996–3005.
- Naranjo, J., Posso, A., Cárdenas, H. & Muñoz, J. 2007. Detección de variantes alélicas de la kappa-caseina en bovinos Harton del Valle. Acta Agronomica, http://goliath.ecnext.com/coms2/gi_0199-6872329/Deteccion-de-variantes-alelicas-de.html#abstract
- Ng-Kwai-Hang, K.F. 1998. A review of the relationship between milk protein polymorphism and milk composition/milk production. *International Dairy Federation*, 9702: 22–37.
- Peakall, R. & Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: Genetics analysis in Excel. Population genetics software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 266–295.

- Poli, M. & Medrano, J.F. 1997. Informe final del Proyecto Desarrollo de un rodeo AA y otro BB para capa-caseína y b-lactoglobulina de vacas lecheras, para mejorar la calidad de la leche para la producción de quesos. Department of Animal Science. University of California, Davis. USA.
- Poli, M., Holgado, F.D. & Rabasa, A.E. 2005. Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes de CSN3 y lactoglobulina B en un rodeo de bovinos Criollos en Argentina. *Veterinaria (Montevideo)*, 40: 44–48.
- Postiglioni, A., Rincón, G., Nelly, L., Llambi, S., Fernández, G., D'Angelo, M., Gagliardi, G., Trujillo, J., de Bethencourt, M., Guevara, K., Castellano, A. & Arruga, M.V. 2002. Biodiversidad genética en bovinos criollos del Uruguay con marcadores moleculares. Archivos de Zootecnia, 51: 195–202.
- Ripoli, M.V., Giovambattista, G., De Luca, J.C., Labarta, F., Echenique, J., Casas, S., Carrizo, E., Sánchez Mera, M. & Dulout, F.N. 1999. Formación de un plantel base de ganado bovino criollo Argentino para producción lechera. Efecto sobre las frecuencias génicas de los loci de K-caseína, α_{S1}-caseína y prolactina. Archivos de Zootecnia, 48: 101–106.
- Ripoli, M.V., Corva, P.M., Antonini, A., De Luca, J.C., Rojas, F., Dulout, F.N. & Giovambattista, G. 2003. Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza criolla Saavedreña. Archivos de Zootecnia, 52: 89–92.
- Rivas, E., Veli, E., Aquino, Y., Rivas, V., Pastor, S. & Estrada, R. 2007. Acciones para la caracterización y conservación del bovino criollo peruano (Bos taurus). Animal Genetic Resorces Information, 40: 33–42.
- Sabour, M., Lin, C., Keough, A., Mechanda, S. & Lee, A. 1993. Effect of selection practiced on the frecuencies of CSN3ein and B-lactoglobulin genotypes in Canadian artificial insemination bulls. *Journal of Dairy Science*, 79: 274–280.
- Swaisgood, H.E. 1992. Chemistry of the caseins. In: Advanced Dairy Chemistry, vol. 1: Proteins (P.F. Fox, ed.), pp. 63–110. London, Elsevier Applied Science.
- Threadgill, D. & Womack, J.E. 1990. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acid Research*, 18: 6935– 6942.
- Uffo, O., Martín-Burriel, I., Martínez, S., Ronda, R., Osta, R., Rodellar, C. & Zaragoza, P. 2006. Caracterización genética de seis proteínas lácteas en tres razas bovinas cubanas. *Animal Genetic Resorces Information*, 39 15–24.
- Veli, E., Rivas, E., Rivas, V., Gutiérrez, G., Pastor, S. & Altamirano, S. 2004. Estudio preliminar de la variabilidad genética del gen de kappa caseína en bovinos criollos de la CC Qochapunco, Ayacucho. In: V Simposio Iberoamericano sobre la conservación y utilización de recursos zoogenéticos. UNA, Puno, Perú.
- Veli, E.A., Rivas Seoane, E., Rivas Palma, V., Aquino, Y. & Estrada, R. 2008. Variabilidad genética del gen de beta lactoglobulina en bovinos criollos de Perú. Archivos de Zootecnia, 57: 341–344.