FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS DE LA B-CASEÍNA EN GANADO BOVINO EN EL DEPARTAMENTO DE PUTUMAYO

GENOTYPIC AND ALLELIC FREQUENCIES OF B-CASEIN IN CATTLE IN THE DEPARTMENT OF PUTUMAYO

Dubel Reinaldo Cely Leal¹
Dixon Fabián Flórez Delgado²
Carlos Mario Duque Cañas³
Sthefany Daniela Gonzalez⁴
Yoicy Robledo⁵

Resumen

El objetivo de este estudio, fue identificar las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes A1 y A2 de la β -caseína en ganado bovino en las ganaderías doble propósito de los municipios de Puerto Asís, Villagarzón, Orito y Valle del Guamuez en el departamento de Putumayo, Colombia. Para ello, se recolectaron muestras de sangre en 44 predios ganaderos y 560 hembras bovinas de las razas Girolando, Brahman, BON y Gyr. A partir de sangre periférica se obtuvo el ADN y la genotipificación de los alelos A1 y A2 se efectuó por PCR y digestión con la endonucleasa de restricción. Las frecuencias genotípicas y alélicas se determinaron por el método del recuento simple. Además, se analizó el hato respecto a la condición de equilibrio génico según Hardy-Weinberg mediante el uso del test estadístico de la X^2 de bondad de ajuste. La frecuencia genotípica predominante fue A2A2 y la alélica A2 en los grupos raciales Girolando, Brahman y Gyr. Para la raza BON las frecuencias predominaron A1A2 y A1. Las poblaciones bovinas de las razas Girolando y BON se encuentran en equilibrio, en contraste con las poblaciones raciales de Brahman y Gyr.

Palabras clave: β -caseína, genotipificación, producción de leche.

Recepción: 10 de marzo de 2024 / Evaluación: 10 de abril de 2024 / Aprobado: 02 de mayo de 2024

¹ Médico Veterinario Zootecnista, Magíster en Salud y Producción Animal, Docente Tiempo Completo. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander, Colombia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9075-0125>, Email: dubel.cely@unipamplona.edu.co

² Zootecnista, Magister en Sistemas Sostenibles de Producción, Docente Tiempo Completo. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander, Colombia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3915-8396>, Email: dixon.florez@unipamplona.edu.co

³ Médico Veterinario Zootecnista, Doctor en Ciencias Agrarias, Docente Tiempo Completo. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander, Colombia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7286-6204>, Email: carlosmario.duque@unipamplona.edu.co

⁴ Ingeniera Ambiental, Maestrante en Sistemas Integrados de Gestión: Prevención, Medio Ambiente y Calidad. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander, Colombia, ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4905-1040>, Email: sthefany.gonzalez@unipamplona.edu.co

⁵ Administradora de Empresas, Magíster en Administración, Líder de Proyectos de Regalías. Vicerrectoría de Investigación. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander, Colombia, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-5684-552X>, Email: yoicy.robledo@unipamplona.edu.co

Abstract

The objective of this study was to identify the genotypic and allelic frequencies of the A1 and A2 variants of β -casein in cattle in dual-purpose livestock farms in the municipalities of Puerto Asís, Villagarzón, Orito and Valle del Guamuez in the department of Putumayo, Colombia. To do this, blood samples were collected from 44 livestock farms and 560 female bovines of the Girolando, Brahman, BON and Gyr breeds. DNA was obtained from peripheral blood and genotyping of the A1 and A2 alleles was carried out by PCR and digestion with restriction endonuclease. Genotypic and allelic frequencies were determined by the simple count method. In addition, the herd was analyzed with respect to the genetic balance condition according to Hardy-Weinberg using the χ^2 goodness-of-fit statistical test. The predominant genotypic frequency was A2A2 and the allelic frequency was A2 in the Girolando, Brahman and Gyr racial groups. For the BON breed, the frequencies A1A2 and A2 predominated. The bovine populations of the Girolando and BON breeds are in balance, in contrast to the Brahman and Gyr breed populations.

Keywords: β -casein, genotyping, milk production.

Introducción

La leche bovina está compuesta por cerca del 88% de agua, 3,4% de proteína, 4,9% de azúcar, 3,4% de grasa, 0,7% de minerales y 3,3% de otros componentes menores lo que la convierte en una importante fuente de nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de terneros y uno de los alimentos básicos de la canasta familiar (Shashank et al., 2018). De acuerdo a la calidad composicional de este producto depende su destino en la industria láctea, es decir, procesos de pasteurización o transformación en derivados lácteos. Dado ello, los avances en mejoramiento genético del ganado bovino, están orientados a mejorar no sólo la producción por lactancia sino, su calidad composicional (Miluchová et al., 2014). Dichos avances producto del mejoramiento genético, han permitido obtener mejores características de la proteína de la leche específicamente la caseína, conllevando a mejores rendimientos en la industria quesera y de leche ácida (Solarte, et al., 2011).

La proteína constituyente de la leche está dividida en tres grupos: caseínas, proteína del suero y proteína del glóbulo graso conformando aproximadamente el 80%, 14% y 1% respectivamente. La caseína, es el tipo de proteína que define la calidad de la leche y su contenido depende del componente racial del animal (Goulding et al., 2020) estando en el rango de 24 a 28 g/L (Silveira, et al., 2012).

En la leche de las especies domésticas, se distinguen cuatro tipos de caseína: alfa s1, alfa s2, beta (β) y kappa (κ) (Franzoi, et al., 2019). La β -caseína es una proteína codificada por el gen CSN2, está compuesta por 209 aminoácidos (Brooke-Taylor et al., 2017). Las formas más comunes de β -caseína en razas de ganado lechero son A1 y A2. De acuerdo con la variabilidad genética del gen CSN2, se ha identificado que las vacas portadoras de los alelos A1 y A2 en su genotipo, producen mayor porcentaje de proteína y mayor producción de leche (Miciński, et al., 2007). El alelo A1 ha sido asociado a un alto porcentaje de lactoalbúmina en leche, mientras que el alelo A2, confiere propiedades reductoras de colesterol y triglicéridos en la leche (Wedholm, et al., 2006).

Se ha determinado que la variante A1 de la β -caseína produce el péptido bioactivo beta-casomorfina-7 (BCM-7) (Bekuma y Galmessa, 2019). Al estar presente la BCM-7 liberada por la variante A1 de la β -caseína, aumenta el tiempo de tránsito del tracto gastrointestinal lo que altera la digestión e induce una respuesta inflamatoria intestinal (Barnett, et al., 2014).

En este contexto, el objetivo de este estudio fue determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes A1 y A2 de la β -caseína de ganado bovino en el departamento de Putumayo (Colombia).

Metodología

Lugar de trabajo y muestra

la investigación se realizó en ganaderías ubicadas en los municipios de Puerto Asís, Villagarzón, Orito y Valle del Guamuez, departamento de Putumayo (Colombia), municipios priorizados dentro del proyecto “Fortalecimiento del sector ganadero mediante la implementación de prácticas sostenibles en el departamento del Putumayo” financiado por el Sistema General de Regalías. Se realizó un muestreo intencional en 44 predios ganaderos con un total de 560 animales entre hembras y machos de diferentes edades de las razas Gyr, Brahman, Girolando y Blanco orejinegro (BON).

Toma de muestras y procesamiento

Los animales fueron inmovilizados en una manga. El ano, vulva, región perineal y cola se lavaron con agua limpia y jabón neutro. Posteriormente se aplicó una solución desinfectante suave de alcohol, secando el excedente con papel absorbente. A través de punción de la vena coccígea media utilizando agujas número 18G y camisa vacutainer se tomó la muestra de sangre la cual se recolectó en tubos en vacutainers sin anticoagulante, previamente identificados con una cantidad de sangre de 10 ml. Las muestras se transportaron al laboratorio en una cava a una temperatura de -4°C para su posterior procesamiento. En el laboratorio se almacenaron a -20°C . El ADN fue obtenido a partir de sangre periférica por el método de extracción con sal (Miller et al., 1989). La genotipificación de los alelos A1 y A2 se efectuó amplificando un segmento del gen de la β -caseína por PCR y por digestión con la endonucleasa de restricción DdeI (Miluchova et al., 2014).

Determinación de las frecuencias genotípicas y alélicas

Las frecuencias genotípicas y alélicas se determinaron por el método del recuento simple. Además, se analizó el rebaño respecto a la condición de equilibrio génico según Hardy-Weinberg (Hoenigsberg, 1992).

Resultados y Discusión

Las frecuencias genotípicas y alélicas de las razas bovinas presentes en las ganaderías de los municipios de Puerto Asís, Villagarzón, Valle del Guamuez y Orito se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Frecuencias genotípicas y alélicas de las principales razas bovinas

Frecuencia Genotípica				Frecuencia Alélica		Total de animales
Raza	A1A1	A1A2	A2A2	A1	A2	
Girolando	5,41%	27,08%	67,51%	18,95%	81,05%	240
Brahman	3,33%	8,89%	87,78%	7,78%	92,22%	180
BON	42,86%	57,14%	--	71,43%	28,57%	7
Gyr	9,77%	13,53%	76,70%	16,54%	83,46%	133

BON: Blanco Orejinegro. Fuente. Los autores

La frecuencia genotípica predominante fue A2A2 con mayor porcentaje en la raza Brahman y sus cruces, seguidamente de la raza Girolando y Gyr. Para la raza BON no se presentó. En la frecuencia genotípica A1A1 predominó en la Raza BON seguidamente de las razas Gyr, Girolando y Brahman. De acuerdo a Morris et al. (2005) el genotipo A2A2 está asociado a mayor producción láctea concordando con lo expresado por Olenski et al. (2012) quienes concluyeron que el alelo A2 es un marcador de gran importancia para una mayor productividad lechera y contenido de proteína láctea como se evidenció principalmente en las razas Gyr y Girolando analizadas en este estudio. La producción láctea está condicionada por la interacción de factores como el clima, el componente racial, alimentación y manejo general los cuales, de acuerdo a la técnica de producción empleada, son controlados por el productor. Sin embargo, existen aspectos propios de cada individuo como la variante genética asociada a la proteína de la leche que ejerce efecto sobre la productividad y su transformación (López et al., 2004) concordando con las razas doble propósito Girolando y Gyr. Las razas *Bos indicus* analizadas tienen un % porcentaje elevado de frecuencias genotípicas A2A2 concordando con Pinheiro et al. (2021) donde analizaron a 283 vacas de raza Guzerat y con un 80 % del genotipo A2A2 y un 90 % del alelo A2 observándose claramente una predominancia de este alelo. Al igual que Rangel et al. (2017), la frecuencia genotípica de las 15 razas de ganado *Bos Indicus* para A2A2 fue de un 97 %. Se evaluó un total de 348 animales dirigido por Pimenta et al. (2020), todos de raza Sindhi (*Bos indicus*) donde reflejó una frecuencia genotípica de un 90 % para A2A2.

Según Dias et al. (2023) del total de muestras (160), la frecuencia de los genotipos A1A1 fue del 16,88%, de los genotipos A1A2 del 35% y del genotipo A2A2 del 48,12% concordando con lo encontrado en el departamento de Putumayo donde la frecuencia A2A2 predomina seguido de la A1A2 y por último la A1A1.

En este sentido, la leche proveniente de hembras homocigotas A2A2 presenta mayores niveles de proteína y mejor rendimiento en su transformación especialmente en queso, situación que ha llevado a la industria láctea a adoptar medidas para obtener leche con altas concentraciones de beta-caseína tipo A2 mejorando así, la calidad de la materia prima y reduciendo la posibilidad de que los consumidores puedan sufrir de alguna patología (Gatica y Alomar, 2017).

En la frecuencia alélica A2 en los grupos raciales predomina primordialmente en la raza Brahman seguidos de la raza Gyr, Gyrolando y por último en la raza BON. Para el alelo A1 predominó en el grupo racial BON seguido del Girolando, Gyr y Brahman concordando con los resultados obtenidos por Dias et al. (2023) quienes obtuvieron una mayor frecuencia del alelo A2 65,62% que del alelo A1 34,38%.

Según (Rivera et al. 2016; Pons, 2015) mencionan que a nivel mundial existe una tendencia con respecto al aumento de la frecuencia génica para el alelo A2 en los hatos lecheros coincidiendo en dos grupos raciales del departamento del Putumayo como lo es Gyr y Girolando dedicados a la ganadería doble propósito.

El alelo A2 fue el más frecuente con una frecuencia del 60,65%, seguido del alelo A1 con una frecuencia del 30,39% reportado por Sebastiani et al. (2020) en un estudio en bovinos en Italia y los alelos A1 y A2 en los animales muestreados fueron 28,27% y 71,73%, respectivamente. Del total de 421 muestras reportado por García et al. (2021) en ganado bovino en Brasil no encontrando diferencias con los resultados obtenidos donde el alelo A2 fue superior seguido por el alelo A1.

En un estudio realizado en el estado de Rio Grande do Norte, Rangel et al. (2017) encontraron frecuencias del 98% para el alelo A2 en la raza Gyr encontrándose por encima de los resultados obtenidos en este trabajo donde se hallaron valores del 83,46%.

En otro estudio en la raza lechera Gyr, se reportaron frecuencias del 89% para el alelo A2 y del 11% para el alelo A1 (Vercesi et al., 2007) difiriendo con lo encontrado en esta investigación del alelo A2 83,46% y A1 16,54%.

Tal como se evidencia en la (tabla 2), las frecuencias observadas y esperadas fueron similares.

Tabla 2. Frecuencia Genotípica y proporciones observadas y esperadas bajo condición de equilibrio génico de Hardy-Weinberg.

Raza	Frecuencia	A1A1	A1A2	A2A2	Total de animales
Girolando	Observada	13	65	162	240
	Esperada	8,61	73,72	157,67	240
Brahman	Observada	6	16	158	180
	Esperada	1	26	153	180
BON	Observada	3	4	0	7
	Esperada	3,57	2,86	0,57	7
Gyr	Observada	13	18	102	133
	Esperada	3,63	36,71	92,66	133
Proporciones					
Raza	Frecuencia	A1A1	A1A2	A2A2	Total
Gyrolando	Observada	0,0541	0,2708	0,6751	1
	Esperada	0,036	0,3071	0,6569	1
Brahman	Observada	0,0333	0,0889	0,8778	1
	Esperada	0,006	0,1438	0,8502	1
BON	Observada	0,4286	0,5714	0	1
	Esperada	0,5102	0,4082	0,0816	1
Gyr	Observada	0,0977	0,1353	0,767	1
	Esperada	0,027	0,276	0,697	1

Fuente. Los autores

Se podría suponer que la población está en equilibrio. Para ello, se comprobó mediante el test estadístico de la X^2 :

$$X^2_{Esp} = \sum (\text{Observados} - \text{Esperados})^2 / \text{Esperados}$$

Para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg, el número de grados de libertad es igual al número de clases fenotípicas menos el número de alelos. Por tanto, la X^2 teórica con la que hay que comparar esta X^2 experimental es la correspondiente a 1 grado de libertad (3 clases fenotípicas – 2 alelos). El valor de la X^2 teórica para un nivel de significancia de 0,05 es de 3,84. En este sentido, las poblaciones bovinas de las razas Gyrolando y BON se encuentran en equilibrio, en contraste con las poblaciones raciales de Brahman y Gyr lo que supone procesos de selección y sistemas de cruzamiento programados para incrementar la productividad de los animales. El equilibrio de estas indica que tanto su genotipo como la frecuencia se mantendrán constantes en el tiempo, sin presentar mutaciones (Kalmes y Huret, 2001).

Conclusiones

La frecuencia genotípica predominante fue A2A2 y la alélica A2 en los grupos raciales Girolando, Brahman y Gyr. Para la raza BON las frecuencias que predominaron fueron A1A2 y A1. Las poblaciones bovinas de las razas Gyrolando y BON se encuentran en equilibrio, en contraste con las poblaciones raciales de Brahman y Gyr.

Referencias bibliográficas

- Barnett, M; Mcnabb, W; Roy, N; Woodford, K. y Clarke, A. (2014). Dietary A1 β -casein affects gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and inflammatory status relative to A2 β -casein in Wistar rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*; 65(6): 720–727. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.898260>
- Bekuma, A, y Galmessa, U. (2019). A1 Beta casein: Devil in the milk-A short communication. *Approaches in Poultry. Dairy and Vet Sci J*; 7(1): 606-608. https://www.researchgate.net/publication/336937475_A1_Beta_Casein_Devil_in_the_Milk-A_Short_Communication
- Brooke-Taylor, S; Dwyer, K; Woodford, K. y Kost, N. (2017). Systematic review of the gastrointestinal effects of A1 compared with A2 β -casein. *Adv Nutr*; 8(5): 739-748. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28916574/>
- Dias, MH; Rotta, FC; Sterman, JB; Fukumasu, H; Dias, H; Lopes, L. y Ferreira, J. (2023). Freqüências alélicas e genotípicas do gene da beta-caseína do leite em bovinos da raça Curraleiro Pé Duro criados no estado do Tocantins. *Peer Review*. <https://peerw.org/index.php/journals/article/view/1282>
- Franzoi, M; Niero, G; Visentin, G; Penasa, M; Cassandro, M. y De Marchi, M. (2019). Variation of detailed protein composition of cow milk predicted from a large Database of mid-infrared spectra. *Animals*; 9(4): 2-14. <https://www.mdpi.com/2076-2615/9/4/176>
- Gatica, C. y Alomar, D. (2017). Variantes genéticas de beta caseína bovina: implicancia en la producción, características tecnológicas de la leche y la salud humana. *Agro Sur*; 45(3): 29-35. <http://revistas.uach.cl/pdf/agrosur/v45n3/art05.pdf>
- Goulding, DA; Fox, PF. y O'Mahony JA. (2020). Milk proteins: An overview. In M. Boland, & H. Singh (Eds.); 21-98. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128152515000025?via%3Dihub>
- Hoenigsberg, FH. (1992). Genética de poblaciones. De Geminis Ltda., Santa Fe de Bogotá.
- Kalmes, R. y Huret, J. (2001). Modelo de Hardy-Weinberg. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. <http://atlasgeneticsoncology.org/teaching/30100/modelo-de-hardy-weinberg>
- López, L. y Vásquez, N. (2004). Determinación del sexo y genotipificación del gen de la k-caseína en embriones bovinos. *Rev. Col. Cien. Pec*; 17(3): 231-240. https://www.researchgate.net/publication/45108242_Determinacion_delsexo_y_genotipificacion_del_gen_de_la_k-caseina_en_embriones_bovinos
- Miciński, J; Klupczyński, J; Mordas, W. y Zabłotna, R. (2007). Yield and composition of milk from Jersey cows as dependent on the genetic variants of milk proteins. *Pol J Food Nutr Sci*; 57(3): 95-99. <http://journal.pan.olsztyn.pl/pdf-98759-30680?filename=YIELD%20AND%20COMPOSITION%20OF.pdf>

- Miller, SA; Dykes, DD. y Polesky, HF. (1989). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*; 16(3): 1215. <https://academic.oup.com/nar/article-abstract/16/3/1215/1234060?redirectedFrom=fulltext>
- Miluchová, M; Gábor, M. y Trakovická, A. (2014). Analysis of genetic structure in Slovak Pinzgau cattle using five candidate genes related to milk production traits. *Genetika*; 46(3): 865-875. https://www.researchgate.net/publication/276334381_Analysis_of_genetic_structure_in_Slovak_Pinzgau_cattle_using_five_candidate_genes_related_to_milk_production_traits
- Morris, C; Hickey, S; Cullen, N; Prosser, C; Anderson, R. y Tate, M. (2005). Associations between β -casein genotype and milk yield and composition in grazing dairy cows. *New Zealand Journal of Agricultural Research*; 48(4): 441-450. <https://doi.org/10.1080/00288233.2005.9513678>
- Oleński, K; Cieślińska, A; Suchocki, T; Szyda, J. y Kamiński, S. (2012). Polymorphism in coding and regulatory sequences of beta-casein gene is associated with milk production traits in Holstein-Friesian cattle. *Animal Science Papers and Reports*; 30(1): 5-12. <https://publisherspanel.com/api/files/view/35444.pdf>
- García, R; De Carvalho, ME; Dias, MH; Poleti, MD; Sterman, JB; Bezerra, AB; Minharro, S; Dias, D. y Ferreira JL. (2021). Allele and genotype frequency for milk beta-casein in dairy cattle in the northern region of Tocantins State, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. (58): 1-6. <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/186603>
- Pimenta, G; Mota, S; Paraná, BM; Bernal, R. y Ferreira, GM. (2020). Genetic potential of Sindhi cattle for A2 milk production. *Animal Production Science*; 60: 893-895. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/AN18677>
- Pinheiro, D; Bernal, R. y Ferreira, G. (2021). Guzerat indicine cattle and A2 milk production. *Animal Biotechnology*; 34: 467-469. <https://doi.org/doi:10.1080/10495398.2021.1962336>
- Pons, A. (2015). Determinación de la frecuencia del alelo A2 de la beta- caseína (CSN2) en pajillas de toros lecheros de la raza Holstein. Master en Biotecnología Alimentaria. Universitat de Girona Escola Politècnica Superior.
- Rangel, A; Zaros, L; Lima, T; Borba, L; Novaes, L; Mota, L. y Silva, M. (2017). Polymorphism in the Beta Casein Gene and analysis of milk characteristics in Gyr and Guzerà dairy cattle. *Genetics and Molecular Research*; 16(2): 1-9. <https://doi.org/10.4238/gmr16029592>
- Rivera, D; Ayala, MA; Morales, RA; Gayosso, A; Rosendo, A. y Becerril, CM. (2016). Frecuencias genotípicas y alélicas de la b-caseína en el bovino Criollo Lechero Tropical de México. *Archivos de Zootecnia*; 65(251): 409-411. <https://doi.org/10.21071/az.v65i251.704>
- Sebastiani, C; Arcangeli, C; Ciullo, M; Torricelli, M; Cinti, G; Fisichella, S. y Biagetti, M. (2020). Frequencies Evaluation of β -Casein Gene Polymorphisms in Dairy Cows Reared in Central Italy. *Animals: an open access journal from MDPI*; 10(2): 2-7. <https://doi.org/10.3390/ani10020252>
- Shashank, CG; Rishi, KP; Garima, G; Taruneet, K. y Manish KK. (2018). A1 and A2 beta casein: Twin faces of milk. *J Pharmacogn Phytochem*; 7(4): 221-224. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue4/PartD/7-3-760-689.pdf>
- Silveira, R; Fischer, V; Rocha, ME; Balbinotti, M; Tempel, M; et al. (2012). Electrophoretic characterization of proteins and milk stability of cows submitted to feeding restriction. *Pesq Agropec Bras*; 47(4): 621-628. https://www.researchgate.net/publication/262619512_Electrophoretic_characterization_of_proteins_and_milk_stability_of_cows_submitted_to_feeding_restriction

- Solarte, CE; Rosero, CY; Eraso, YM; Zambrano, GL; Martínez, OA; Guerrón, ML; Cháves FP. (2011). Polimorfismo de las fracciones caseínicas de la leche en bovinos Holstein del Trópico Alto de Nariño. *Livestock Res Rural Dev*; 23(6): 1-11. <https://www.lrrd.org/lrrd23/6/sola23136.htm>
- Vercesi, AE; Madalena, FE; Albuquerque, LG; Freitas, AF; Borges, LE; Ferreira, JJ; Teodoro, RL; Faria, FJC. (2007). Parâmetros genéticos entre características de leite, de peso e a idade ao primeiro parto em gado mestiço leiteiro (Bos taurus x Bos indicus). <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/VMFqjNMhPYz5JHwbf4M8LQR/abstract/?lang=pt#>
- Wedholm, A; Larsen, L; Lindmark-Månsson, H; Karlsson, A. y Andrén, A. (2006). Effect of protein composition on the cheese making properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Sci*; 89(1): 3296-3305. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206723669>