

Efecto de la Variante Genética de la *k*-Caseína sobre la Producción y Composición de la Leche de un Rebaño Holstein en el Trópico

Effect of the *k*-Casein Genetic Variant on Milk Yield and Composition in a Holstein Herd in the Tropics

Carlos Alvarado^{*,1}, Bernavé Meléndez^{*}, María Clavijo^{*}, Matilde Coronado^{*}, Santiago Armas^{*} y Olymar Giménez^{*}

^{*}Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 4563, Maracay 2101, Aragua.Venezuela **Correo-E: alvarado1959@yahoo.com**

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto del polimorfismo de la *k*-caseína sobre la producción y composición química de la leche, en un rebaño de raza Holstein ubicado en la zona central de Venezuela, se determinó la distribución de las variantes genéticas de la *k*-caseína en el rebaño utilizando la técnica de isoelectroenfoque en gel de poliacrilamida. Se analizaron 294 muestras de leche, recolectadas de 62 vacas en producción durante un período de siete (7) meses. Los resultados fueron analizados mediante diseño estadístico de bloques al azar con arreglo factorial 2³. El alelo A de la *k*-caseína se encontró en 92% de las vacas en producción, mientras que el alelo B se encontró en el 52%. Al comparar estadísticamente los niveles de producción de leche de cada uno de estos animales se observó un mayor volumen de producción diaria en las vacas con el alelo A de la *k*-caseína. El análisis estadístico de los resultados sobre la composición de estas muestras de leche demostró que el polimorfismo de la *k*-caseína encontrado en este rebaño Holstein no tiene efecto sobre el contenido de los principales componentes de la leche.

(Palabras clave: *k*-caseína, leche de vaca, razas (animales), Holstein, composición aproximada, variación genética, Aragua)

ABSTRACT

To evaluate the effect of *k*-casein polymorphism on milk yield and composition in a Holstein herd located in the central region of Venezuela, different *k*-casein genetic variants present in the herd were determined by the isoelectric focusing technique. A total of 294 milk samples were analyzed using a completely randomized statistical design with a 2³ factorial arrangement. The allele A of casein was found in 92% of the cows in the herd, while the allele B was found in 52%. When the levels of milk yield of each animal were compared, it was found that those animals with allele A had a higher daily milk yield. The statistical analysis of the results of milk composition from milk samples showed that the *k*-casein polymorphism found in the Holstein herd has no effect on the content of the main components of milk.

(Key words: *k*-casein, cow milk, breeds (animals), Holstein, proximate composition, genetic variation, Aragua)

Recibido:16/10/06 - Aprobado: 18/04/07

INTRODUCCIÓN

Como actividad productiva rentable, el éxito de la producción e industrialización lechera depende del manejo de los factores que inciden sobre el rendimiento de la leche. Por ejemplo, a nivel de la Industria del Queso, juega un papel de gran importancia el contenido de sólidos de la leche en la elaboración de productos lácteos: a mayor contenido de grasa y caseína en la leche utilizada como materia prima, mayor será la cantidad de queso obtenido.

Según Auld et al. (1998) los factores que ejercen una influencia significativa, sobre la composición de la leche, son: a) factores genéticos asociados a las distintas razas lecheras, b) factores nutricionales asociados con la disponibilidad estacional y cambiante de la calidad de los pastos a lo largo del año, c) factores fisiológicos asociados con la etapa de lactación, d) factores patológicos relacionados con la incidencia de mastitis y otras enfermedades.

Dentro de los primeros factores mencionados, el polimorfismo genético de las proteínas de la leche, existente en todas las razas lecheras, es de gran interés en la producción animal debido a su relación con caracteres productivos, de composición y calidad de la leche (Amigo et al., 2000).

La relación entre las variantes genéticas de las proteínas y la composición de la leche ha sido elucidada por numerosos estudios, en particular se ha evidenciado que las leches caracterizadas por las variantes B de la β -lactoglobulina, κ -caseína y β -caseína presentan un contenido de nitrógeno mayor que el de aquellas caracterizadas como tipo A, y por tanto, son más favorables para la producción de quesos (Formaggioni et al., 2000). Diversos autores han reportado también el efecto positivo del alelo B de la κ -caseína sobre las propiedades de coagulación de la leche (Ng-Kwai-Hang et al., 1987; Ostersen et al., 1997; Ikonen et al., 1999). La mayor parte de estos trabajos se han realizado en zonas templadas y son escasos los trabajos realizados bajo las condiciones del trópico.

Diversas técnicas se emplean en la identificación de las variantes genéticas de las proteínas de la leche, una que ha sido ampliamente usada es la del Isoelectroenfoco: técnica de electroforesis en la cual se utiliza la propiedad del punto isoelectrónico de cada una de las proteínas de la leche para lograr la separación de las mismas. Mediante esta técnica se han logrado identificar las dos principales variantes genéticas de la κ -caseína: A y B (Macheboeuf et al., 1993).

En el presente estudio se evaluó el efecto del polimorfismo de la κ -caseína sobre la producción de leche y su contenido de grasa, caseína, proteína y sólidos totales, en un rebaño Holstein manejado en condiciones tropicales.

MATERIALES Y MÉTODOS

El rebaño estudiado pertenece a la Estación Experimental Santa María de la FCV-UCV, ubicada en el sector Santa María del Municipio Zamora, en el estado Aragua. La Estación se encuentra a una altura de 436 m.s.n.m., en una zona caracterizada por una precipitación promedio anual de 1.120 mm, distribuida principalmente entre los meses de mayo y octubre; de clima cálido (temperaturas entre 20,3 y 31,6 °C) y humedad relativa entre 61 y 79%.

El manejo de este rebaño, de 62 vacas de raza Holstein, se realiza bajo un sistema intensivo estabulado, con un promedio mensual de 42 vacas en producción mediante ordeño mecánico dos veces al día (el primero a las 6 a.m. y el segundo a las 4 p.m.). La Estación Experimental mantiene registros diarios de la producción de leche para cada animal, a partir de los cuales se tomaron los datos de producción del día de cada vaca correspondientes a la fecha de toma de la muestra.

Durante el período de recolección de muestras, la alimentación tuvo una base de forrajes, residuos de cebada (subproducto de cervecería) y alimento concentrado (V-40 de Procría, elaborado a partir de subproductos del procesamiento de maíz y semillas de oleaginosas). El forraje estuvo conformado por pasto fresco (*Cynodon plectostachium*, *Panicum maximum* y/o *Cynodon dactylon*), o por ensilaje de sorgo (*Sorghum vulgare*). La dieta diaria de cada animal consistió de 20 Kg de forraje, 8 Kg de cebada y una cantidad de alimento concentrado de acuerdo al nivel de producción de leche de cada animal (4, 6 y 9 Kg

de alimento concentrado para vacas con producciones menores de 14, de 14 a 17 y mayores de 17 Lts de leche, respectivamente).

En un período de siete (07) meses, desde septiembre del 2001 hasta abril 2002, se recolectaron 294 muestras de leche en total.

Se procedió a recolectar , una muestra de 300 mL de leche de cada vaca en producción una vez al mes, en el ordeño de la mañana, a partir del recipiente de recolección de cada puesto de ordeño. Se aseguró la homogeneidad de la muestra previo a la toma, mediante agitación por inversión del sistema de vacío en el recipiente de recolección, después de culminado el ordeño. Siguiendo el procedimiento establecido en la Norma COVENIN 938-83 (Fondonorma, 1983), en cada puesto de ordeño, se procedió a colocar un envase estéril en la boquilla de descarga del recipiente, abriéndola para permitir el llenado del envase. Luego de cerrado herméticamente el frasco, se procedió a colocarlo en una cava con hielo. Una vez concluida la toma de muestras de todas las vacas en producción, la cava con las muestras fue transportada al Laboratorio de Industria de la Leche de la FCV-UCV, núcleo Maracay, para su análisis inmediato. Al momento de la recepción, antes de iniciar los análisis químicos, se tomaron 10 mL de leche de cada envase y se colocaron en viales, debidamente identificados y sellados, para almacenarlos bajo congelación a -25 °C, hasta el momento de realizar la electroforesis.

Identificación de variantes de la κ -caseína

A partir de alícuotas de cada muestra de leche, se procedió a determinar los tipos de variante de la κ -caseína presentes en el rebaño. La identificación se logró mediante la técnica de electroforesis por Isoelectroenfoque (IEF) en gel de poliacrilamida, según el procedimiento descrito por Seibert *et al.* (1985), utilizando un equipo HE 950 *Isobox Cooled Flatbed* (Hoefer Scientific Instruments, San Francisco, California, USA), perteneciente al Instituto de Genética Aplicada de la Facultad de Agronomía, UCV, núcleo Maracay.

Diez mL de cada muestra de leche se centrifugaron a 4500 g por 20 minutos a 4°C, se descartó la grasa sobrenadante y luego se diluyó la leche descremada en una proporción 1:1 con una solución 8 mol/L de úrea en agua destilada conteniendo 3% (v/v) de 2-mercaptoetanol (solución muestra-úrea-mercaptoetanol).

El gel de poliacrilamida 5% T (% del monómero: acrilamida mas bisacrilamida) se preparó diluyendo úrea y la mezcla de anfolitos (*Pharmalyte 3-10, Pharmacia, Uppsala, Suecia*) en la solución monómero de acrilamida-N,N'-metilenebisacrilamida (Ready Mix IEF, *Pharmacia, Uppsala, Suecia*), polimerizando con persulfato de amonio y N,N,N',N'-tetrametiletildiamina (TEMED; *R.D.H., Köln, Alemania*). Inmediatamente se vertió la solución de poliacrilamida 5% T en un «molde», espacio de 1 mm entre dos láminas vidrio, previamente tratadas con Silane (Bind Silane para el soporte y Repel Silane para la tapa, ambos *Pharmacia, Uppsala, Suecia*), y selladas en tres de los bordes. Posteriormente, se dejó en reposo hasta la completa gelificación de la solución. Una vez listo el gel, se retiró la tapa de vidrio del molde y se colocó el gel con su soporte sobre la plancha refrigerada (10°C) del *Isobox*. Se colocaron dos franjas de papel absorbente *Whatman* N° 1 (*Whatman L.T.D., Maidstone, Inglaterra*) de 5mm de ancho en ambos extremos del gel donde reposarían cada uno de los electrodos del sistema. Para el ánodo se impregnó la tira de papel con una solución 0,2M de ácido acético con 5% glicerol; para el cátodo se utilizó una solución 1M de NaOH.

Una vez ensamblado el sistema se realizó un pre-enfoque por 15 minutos a potencia constante (10W) y voltaje variable (iniciando en 800V); de esta forma se asegura la formación del gradiente de pH necesario para la separación de las proteínas por ésta técnica. Luego se colocó, a una distancia de 2mm de separación del ánodo, una fila de pequeños círculos de papel de filtro, *Whatman* N° 1 (*Whatman L.T.D., Maidstone, Inglaterra*) de 2mm de diámetro cada uno. Con una micropipeta, para cada muestra de leche, se inocularon 20 mL de solución muestra-úrea-mercaptoetanol sobre los círculos de papel; en uno de los círculos de los extremos se inoculó una solución de patrones de proteína (*Broad pH kit 3,5-9,3, Pharmacia, Uppsala, Suecia*) para poder luego identificar las bandas separadas. Se reensambló el equipo y se conectó la fuente de poder a potencia constante (10W) por una hora.

Al concluir el enfoque, se retiró el gel de la plancha y se sumergió en una solución 20% (p/v) de ácido tricloroacético por 10 minutos para su fijación. Luego, se enjuagó en agua por 10 segundos y se sumergió en una solución 0,1% de *coomasie-blue R 250* (*Pharmacia Uppsala, Suecia*), 45% de etanol y 10% de ácido acético, para su coloración, durante 30 minutos. Luego, se enjuagó y se sumergió, por 20 horas, en una solución 30% v/v de etanol y 10% v/v de ácido acético para decolorar el gel y revelar las bandas. Al retirarlo de esta solución, se colocó sobre papel absorbente para eliminar el exceso de humedad. Se identificaron las bandas de acuerdo a su posición en el gel con relación al patrón de proteínas. Dependiendo de la presencia de una o ambas bandas correspondientes a la κ -caseína, ubicadas hacia donde estuvo conectado el polo negativo del gel, se identificaron las vacas de donde se extrajo la muestra como: AA, AB, BB.

Análisis Químico

En el Laboratorio de Industria de la Leche de la FCV-UCV, cada muestra de leche fue sometida a los siguientes análisis: a) determinación de grasa por el método de Babcock según Norma COVENIN 503-82 (Fondonorma, 1982); b) determinación de caseína por el método de Walker (Rosell y Dos Santos, 1952); c) determinación de proteína por el método de Kjeldahl según norma COVENIN 370:97 (Fondonorma, 1997); d) determinación de humedad mediante diferencia de peso después de secado en estufa a 100°C (A.O.A.C., 1990), a partir de este resultado se calculó, por diferencia, el contenido de sólidos totales.

Análisis Estadístico

Utilizando el paquete estadístico Statistix 8.0 (*Analytical Software, USA*), se evaluaron los resultados obtenidos para cada variable (producción diaria, contenido de grasa, caseína, proteína y sólidos totales) mediante un Diseño de Bloque al Azar con arreglo Factorial 2^3 . Se comprobó el cumplimiento de los supuestos del ANAVAR, antes de aplicar pruebas paramétricas, incluyendo el de independencia de los residuales.

Los dos factores considerados en el ensayo fueron: Período dentro de la curva de lactación (*inicial*: de 1 a 60 días; *medio*: de 61 a 120 días; y *final*: más de 120 días), y tipo de variante genética de la κ -caseína (AA, AB, BB). Las variables cuantificadas fueron: producción diaria, contenidos porcentuales de grasa, caseína, proteína totales y sólidos totales. Los dos bloques representan los grupos de vacas clasificadas según la edad (1: menos de 66 meses; 2: de 66 a 78 meses), esto basado en análisis previos (datos no publicados) en los cuales se observó que el segundo grupo alcanza una producción de leche significativamente mayor que el primero.

El modelo utilizado en el presente estudio consideró efectos fijos para los factores y el bloque:

$$Y_{ijk} = m + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, a = 3$$

$$j = 1, b = 3$$

$$k = 1, r = 2$$

Donde:

Y_{ijk} : observación del i-ésimo nivel del período de lactancia, j-ésima variante genética y k-ésimo grupo de edad

m : media general

α_i : efecto del i-ésimo nivel del período de lactación

β_j : efecto de la j-ésima variante genética de la κ -caseína

$(\alpha\beta)_{ij}$: efecto de la interacción de primer orden del i-ésimo nivel del período de lactancia y la j-ésima variante genética de la κ -caseína.

ρ_k : efecto del k-ésimo bloque (grupo de edad)

ε_{ijk} : error experimental del i-ésimo nivel del período de lactancia, la j-ésima variante genética y el k-ésimo bloque.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variantes de la κ -Caseína

Los geles obtenidos mediante la técnica de isoelectroenfoque demuestran que el rebaño total de 62 vacas de la E.E. Santa María está conformado por: 30 vacas (48%) homocigotas AA, 27 (44%) heterocigotas AB y 5 (8%) homocigotas BB. Se tiene así que el alelo A está presente en el 92% del rebaño, mientras que el B está en el 52%.

Estos resultados eran de esperarse, considerando que la selección de los animales en un rebaño, tradicionalmente se ha realizado para aumentar la producción diaria de leche, la cual se ha demostrado está asociada con el alelo A de la κ -caseína; en la raza Holstein, por ejemplo, se han observado frecuencias de hasta 93% (Formaggioni *et al*, 2000).

Producción diaria y composición de la leche

En la [Tabla 1](#) se observa que para todas las variables, a excepción del contenido de grasa, existen diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los bloques (representados por los dos grupos de edad). Se confirmó de esta manera que el grupo de mayor edad (> 66 meses) produjo una cantidad significativamente mayor de leche que el de menor edad (< 66 meses). Y en concordancia con estos resultados, el contenido de sólidos totales (incluyendo caseínas y proteínas) resultó significativamente menor, reflejando un efecto de dilución debido a una mayor cantidad de leche producida.

Tabla 1. Promedios de Producción diaria (Kg) y composición de leche de las vacas seleccionadas, para cada grupo de muestras clasificados por edad (en meses)

Variable	Edad	
	≤ 66 meses	> 66 meses
Producción (Kg)	16,2 ^b	19,1 ^a
% Grasa	3,1 ^a	3,3 ^a
% Caseína	2,4 ^a	2,2 ^b
% Proteína total	3,0 ^a	2,7 ^b
% Sólidos totales	11,6 ^a	10,9 ^b

a,b: índices diferentes indican grupos estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) ANAVAR.

En las [Tablas 2 a la 6](#) se resumen los promedios de cada una de las variables evaluadas mediante el modelo estadístico propuesto; determinándose la diferencia entre medias mediante la prueba de Tukey.

Tabla 2. Promedios de Producción diaria (Kg) de leche de las vacas seleccionadas, según registros de la E.E. Santa María para el día de toma de la muestra, para cada combinación de los factores: período de lactancia y variante genética

PERIODO DE LACTANCIA				
Genotipo	Inicial	Medio	Final	Promedio Genotipo
AA	17,4 ^b	20,6 ^b	14,4 ^b	17,5 ^b
AB	22,0 ^a	21,3 ^b	16,5 ^b	19,9 ^a
BB	17,2 ^b	15,6 ^b	13,6 ^c	15,5 ^c
Promedio P.Lactancia	18,9 ^a	19,2 ^a	14,9 ^b	

a,b,c: índices diferentes indican grupos estadísticamente diferentes (P < 0,05) ANAVAR.

Tabla 3. Contenido porcentual de grasa (%) en leche de las vacas seleccionadas, para cada combinación de los factores: período de lactancia y variante genética

PERIODO DE LACTANCIA			
Genotipo	Inicial	Medio	Final
AA	3,1 ^a	4,1 ^a	3,0 ^a
AB	3,0 ^a	2,9 ^a	3,2 ^a
BB	3,0 ^a	3,4 ^a	3,1 ^a

a,b: índices diferentes indican grupos estadísticamente diferentes (P < 0,05) ANAVAR.

Tabla 4. Contenido porcentual de caseína (%) en leche de las vacas seleccionadas, para cada combinación de los factores: período de lactancia y variante genética

PERIODO DE LACTANCIA			
Genotipo	Inicial	Medio	Final
AA	2,1 ^a	2,1 ^a	2,5 ^a
AB	2,2 ^a	2,0 ^a	2,4 ^a
BB	2,2 ^a	2,4 ^a	2,4 ^a

a,b: índices diferentes indican grupos estadísticamente diferentes (P < 0,05) ANAVAR.

Tabla 5. Contenido porcentual de proteína (%) en leche de las vacas seleccionadas, para cada combinación de los factores: período de lactancia y variante genética

PERIODO DE LACTANCIA			
Genotipo	Inicial	Medio	Final
AA	2,6 ^a	2,6 ^a	3,2 ^a
AB	2,7 ^a	2,6 ^a	3,1 ^a
BB	2,6 ^a	2,8 ^a	3,1 ^a
Promedio P.Lactancia	2,7 ^b	2,7 ^b	3,1 ^a

a,b: índices diferentes indican grupos estadísticamente diferentes (P < 0,05) ANAVAR.

Tabla 6. Contenido porcentual de sólidos totales (%) en leche de las vacas seleccionadas, para cada combinación de los factores: período de lactancia y variante genética

PERIODO DE LACTANCIA			
Genotipo	Inicial	Medio	Final
AA	11,1 ^a	12,1 ^a	11,5 ^a
AB	11,2 ^a	10,9 ^a	11,4 ^a
BB	10,9 ^a	10,4 ^a	11,7 ^a

a,b: índices diferentes indican grupos estadísticamente diferentes (P < 0,05) ANAVAR.

Según el análisis estadístico, la interacción entre el período de lactancia y la variante genética no fue significativa en ninguno de los casos, por tanto, cada variable evaluada es afectada de forma independiente por cada uno de estos factores.

En el caso de la producción de leche por día ([Tabla 2](#)), analizando cada efecto independientemente, existe suficiente evidencia para suponer un efecto significativo (P<0,05) de los grupos. Las vacas en las dos primeras etapas de la lactación (hasta 120 días) produjeron mayor cantidad de leche que al final de la misma (más de 120 días), confirmando lo reportado por numerosos estudios resumidos por Walstra *et al.* (2000), según los cuales la curva de la lactación se caracteriza por incremento marcado en la producción dentro de los primeros 60 días, luego de lo cual se estabiliza y después de los 140 días comienza a disminuir hasta el momento del secado.

Con respecto a la variante genética de la κ -caseína, las vacas con el alelo A produjeron significativamente (P<0,05) más leche que las homocigotas BB. En general, la literatura señala que el alelo A está asociado a una mayor producción de leche. Gonyon *et al.* (1987) y Bovenhuis *et al.* (1992) reportaron que la κ -caseína AA estaba asociada con una mayor producción de leche que la tipo BB, mientras que el heterocigoto AB mostró una producción intermedia. En contraste, Ng-Kwai-Hang *et al.* (1987) demostraron que las vacas κ -caseína AB resultaron mayores productoras que cualquiera de las homocigotas. Esto último coincide con lo encontrado en el presente trabajo, donde las vacas identificadas como κ -caseína AB produjeron significativamente más leche que las homocigotas.

Por lo general, se considera que una mayor producción de leche está asociada a un menor contenido de sólidos. En el presente estudio, esto solo se vio reflejado al analizar el efecto de la curva de lactación sobre el contenido de proteína de la leche ([Tabla 5](#)), mas no para las demás variables ([Tablas 3, 4 y 6](#)). En la [Tabla 5](#), se observa que efectivamente en el caso de la proteína total, se obtuvo un contenido porcentual significativamente mayor en las muestras de leche provenientes de vacas en la etapa final de lactancia.

Con respecto a los contenidos de grasa, caseína, proteínas y sólidos totales, ([Tablas 3,4,5 y 6](#)) no se encontró suficiente evidencia muestral para rechazar la hipótesis nula de igualdad de las medias entre variantes genéticas de la κ -caseína, por tanto, se puede asumir que no existe diferencia en estos contenidos debido a este factor. Estos resultados concuerdan parcialmente con lo reportado por Macheboeuf *et al.* (1993) quienes no encontraron diferencias significativas entre el tipo de variante de la κ -caseína y la composición química de la leche. Sin embargo, no coincide con lo reportado por Ostersen *et al.* (1997) sobre un mayor porcentaje de grasa cuando está presente el alelo B de la κ -caseína.

CONCLUSIONES

El rebaño Holstein evaluado en el presente trabajo, presenta una mayor prevalencia del alelo A de la κ -caseína, presumiblemente debido a la selección realizada en busca de una mayor producción de leche. La variante genética A de la κ -caseína demostró tener efecto sobre el volumen de producción de leche, siendo las vacas heterocigotas AB las mayores productoras, seguidas por las homocigotas AA. El polimorfismo de la κ -caseína no resultó estar asociado a cambios en el contenido porcentual de los distintos componentes de la leche en el rebaño analizado en el Trópico.

REFERENCIAS

1. Amigo, L.; Recio, I.; Ramos, M. 2000. Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk – a review. *International Dairy J.*, **10**:135-149. [[Links](#)]
2. Auldist, M.; Walsh, B.; Thomson, N. 1998. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.*, **65**:401-411. [[Links](#)]
3. A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th ed. AOAC, Inc., Virginia, USA. [[Links](#)]
4. Bovenhuis, H.; Van Arendonk, J.; Korver, S. 1992. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.*, **72**:2549-2559. [[Links](#)]
5. Formaggioni, P.; Summer, A; Malacarne, M.; Mariani, P. 2000. Milk protein polymorphism: detection and difusión of the genetic variants in *Bos genus*. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma*, **19**:127-165. [[Links](#)]
6. Fondonorma. 1982. Norma COVENIN 503. Determinación de grasa método de Babcock . 1ª Revisión. Fondonorma, Caracas, Venezuela. [[Links](#)]
7. Fondonorma. 1983. Norma COVENIN 938-83. Leche y productos lácteos. Métodos para la toma de muestra. Fondonorma, Caracas, Venezuela. [[Links](#)]
8. Fondonorma. 1997. Norma COVENIN 370-97. Determinación de proteínas. 2da. Revisión. Fondonorma, Caracas, Venezuela. [[Links](#)]
9. Gonyon, D.; Mather, R.; Hines, H; Haenlein, C.; Arave, C.; Gaunt, S. 1987. Association of bovine blood and milk polymorphism with lactation traits: Holstein. *J. Dairy Sci.*, **70**:2585-2598. [[Links](#)]
10. Ikonen, T.; Ahlfors, K.; Kempe, R.; Ojala, M.; Ruottinen, O. 1999. Genetic parameters for the milk coagulation properties of noncoagulating milk in finnish dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **82**:205-214. [[Links](#)]
11. Macheboeuf, D.; Coulon, J.; D´Hour, P. 1993. Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows milk coagulation properties. *J. Dairy Research*, **60**:43-54. [[Links](#)]
12. Ng-Kwai-Hang, K.; Hayes, J.; Moxley, J.; Monardes, H. 1987. Variation in milk protein concentration associated with genetic polymorphism and environmental factors. *J. Dairy Sci.*, **69**:22-26. [[Links](#)]
13. Ostersen, S.; Foldager, J.; Hermansen, J. 1997. Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *J. Dairy Research*, **64**:207-219. [[Links](#)]
14. Rosell, J; Dos Santos, I. 1952. Métodos analíticos de laboratorio lactológico y microbiología de las industrias lácteas. Tomo I. Ed. Labor, S.A., Barcelona, España. 913 p. [[Links](#)]
15. Seibert, B.; Erhardt, G.; Senft, B. 1985. Procedure for simultaneous phenotyping of genetic variants in cow´s milk by isoelectric focusing. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, **16**:183-191. [[Links](#)]
16. Walstra, P.; Geurts, T; Noomen, A.; Jellema, A.; Van Boekel, M. 2000. Ciencia de la leche y Tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia, S.A., España. [[Links](#)]

© 2012 *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela*

Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Apartado de Correos 4563/ 2101A. Maracay, Estado Aragua. Venezuela. Telfs.:058-0243-5506137; fax: 058-0243-5506250