

POLIMORFISMO EN LOS GENES ESTEAROIL-COENZIMA A DESATURASA Y ACIL-COA: DIACILGLICEROL ACILTRANSFERASA 1 EN EL GANADO SIBONEY DE CUBA

Acosta A.^{1*}, Uffo O.¹, Ronda R.¹, Fernandes Z.², Lopes F.³,
Gomes-Filho M.A.², Barbosa S.B.P.³

¹ Laboratorio de Genética Molecular (GenMol), Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CEN-SA) PO Box 10, San José de las Lajas, CP 32700, Mayabeque, Cuba.

² Laboratório Fisiologia Animal Molecular Aplicada (FAMA), Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), CEP 55292-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

³ Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE), Departamento de Zootecnia, UFRPE, CEP 55292-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

* acabad80@gmail.com

ABSTRACT

Milk fat composition is one of the factors influencing the nutritional quality of dairy products. We studied the A293V polymorphisms in the Stearoyl-Coenzyme A Desaturase locus (SCD) and the K232A polymorphisms in the Acyl CoA: Diacylglycerol Acyltransferase 1 locus (DGAT1). Both enzymes have an important role in lipid metabolism. The aims of the present study was to determine gene frequencies for both *loci* in the breed Siboney de Cuba (N=165). The methodology for both *loci* was amplification created restriction sites (ACRS). We observed that the SCD^A allele and the DGAT1^A allele were the most frequent in the studied population. Three genotypes were identified at each *locus*, with the following frequencies: 0.821, 0.172 and 0.007 for genotypes AA, AS and SS, respectively, at the SCD *locus* and 0.686, 0.212 and 0.102 for genotypes AA, AK and KK, respectively, at the DGAT1 *locus*. The SCD *locus* was in Hardy-Weinberg equilibrium, whereas a deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium ($p < 0,001$) was found at the DGAT1 *locus*.

Key words: cattle, SCD, DGAT1, allele frequency

RESUMEN

La composición de ácidos grasos en la leche es de gran importancia para evaluar la calidad nutricional de los productos lácteos. Se estudiaron los polimorfismos A293V del *locus* estearoil-coenzima A desaturasa (SCD) y K232A del *locus* Acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa 1 (DGAT1). Ambas enzimas tienen una importante función en el metabolismo lipídico. El objetivo fue determinar las frecuencias génicas en la raza Siboney de Cuba (N=165). La metodología empleada para ambos *loci* fue la amplificación creando el sitio de restricción (ACRS). Se observó que los alelos SCD^A y DGAT1^A fueron los más frecuentes en la población estudiada. Se identificaron los tres genotipos en ambos *loci*, con frecuencias en el *locus* SCD de 0,821; 0,172 y 0,007 para los genotipos AA, AS y SS respectivamente, mientras que las frecuencias de los genotipos AA, AK y KK fueron de 0,686; 0,212 y 0,102 en el *locus* DGAT1. El *locus* SCD se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg, no siendo así para el *locus* DGAT1 ($p < 0,001$).

Palabras clave: bovino, SCD, DGAT1, frecuencia alélica.

INTRODUCCIÓN

Es creciente el interés en la composición de ácidos grasos en la leche como parámetro de gran importancia para evaluar la calidad nutricional de la misma (Morris *et al.*, 2007; Schennink *et al.*, 2008; Schennink *et al.*, 2009a; Schennink *et al.* 2009b). Se conoce que la concentración de ácidos grasos en la leche está influenciada en gran medida por la alimentación que reciben los animales (Jenkins y McGuire, 2006), pero la bibliografía sugiere que el estudio de genes candidatos asociados a este carácter pudiese contribuir a obtener producciones lácteas de mayor valor nutricional (Schennink *et al.*, 2008; Signorelli *et al.*, 2009; Conte *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011).

En diferentes investigaciones se propone el estudio como genes candidatos a estearoil-coenzima A desaturasa (*Stearoyl-Coenzyme A Desaturase* SCD) y a Acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa 1 (*Acyl CoA: Diacylglycerol Acyltransferase 1* DGAT1) (Mele *et al.*, 2007; Näslund *et al.*, 2008; Schennink *et al.*, 2008; Maharani *et al.*, 2012). En el *locus* SCD se describe un polimorfismo de nucleótido simple (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) en el exón 5 que causa la sustitución del aminoácido alanina (alelo A) por valina (alelo V) en la posición 293 de la cadena aminoácídica (Taniguchi *et al.*, 2004). Se ha descrito una relación significativa entre el polimorfismo A293V del *locus* SCD con producción de leche, contenido de grasa y la composición de la fracción lipídica de la leche (Mele *et al.*, 2007; Macciotta *et al.*, 2008; Kgwatalala *et al.*, 2009a Mao *et al.*, 2012). En el *locus* DGAT1 la sustitución aminoácídica de lisina (alelo K) por alanina (alelo A) en la posición 232 se asocia a variaciones en la composición de ácidos grasos en la leche (Kaupe *et al.*, 2007; Schennink *et al.*, 2007), así como al contenido de grasa y proteína en la misma (Signorelli *et al.*, 2009).

Siboney de Cuba es una raza sintética obtenida a partir del cruzamiento $\frac{5}{8}$ Holstein - $\frac{3}{8}$ Cebú Cubano, la cual juega un papel preponderante en la producción láctea en el país. El objetivo del presente trabajo fue determinar las frecuencias génicas de los polimorfismos A293V del *locus* SCD y K232A del *locus* DGAT1 en la raza Siboney de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y obtención del material genético

Cumpliendo las normas establecidas del comité de ética y bienestar animal, se tomaron muestras de sangre periférica de 165 vacas de la raza Siboney de Cuba. Se emplearon 0.5 ml de 0.5 M EDTA como anticoagulante y se procedió a la extracción y purificación del ADN mediante el método de precipitación salina descrito por Miller *et al.* (1988).

Genotipado de los loci SCD y DGAT1

Los polimorfismos de interés en estos dos *loci*, fueron estudiados a partir del desarrollo de la metodología de ACRS combinada con el empleo de la reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) en ambos casos. Los oligonucleótidos empleados en la PCR fueron diseñados con el empleo del programa Vector NTI Advance™ 11.0 (Invitrogen Corporation 2008) (Tabla 1). El volumen final de la reacción fue de 25 μ L constituida por buffer de reacción 10X (conteniendo 10mM TrisHCl, pH 9; 50mM KCl y 0,1 % Triton X-100), 50mM MgCl₂, 1,25mM dNTPs, 20nmol/ μ L de oligonucleótido correspondiente y 5U/ μ L de polimerasa ADN comercial (Fermentas), completándose el volumen final con agua. Los programas de amplificación empleados para ambos *loci* fueron similares, variando sólo en la temperatura de alineamiento. Dichos programas constaron de 94°C por 5min en la etapa de desnaturalización, seguido por 32 ciclos de 94°C por 1min, 1min de alineamiento y 72°C por 1min; el tiempo final de extensión fue de 5min a 72°C.

A partir de 10 μ L del producto amplificado se procedió a la digestión con las enzimas específicas para cada uno de los fragmentos (Tabla 1). La temperatura de incubación fue de 37°C durante 3 hs. La visualización del producto digerido se realizó en gel de agarosa al 2%, TBE 0,5X, con tinción de Blue Green Loading Dye I (LGC Biotecnología), empleando 0,3 μ L por cada 5 μ L de producto digerido.

Procesamiento estadístico

El programa GENEPOP versión 3,4 (Raymond y Rousset, 1995; Rousset, 2008) se empleó para realizar el cálculo de las frecuencias alélicas y genotípicas, y la prueba exacta de la desviación de los *loci* del estado de equilibrio Hardy-Weinberg. El cálculo de la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) por *locus* se realizó usando el programa ARLEQUIN (Excoffier *et al.*, 2005).

RESULTADOS

A partir de los oligonucleótidos diseñados se obtuvieron fragmentos amplificados de 257pb para el *locus* SCD y de 210pb para el *locus* DGAT1. El empleo de la metodología de creación de sitio de restricción permitió visualizar los tres genotipos para ambos *loci* (Figuras 1 y 2).

Las frecuencias alélicas y genotípicas para cada *locus* se muestran en la Tabla 2. En el *locus* SCD el alelo más frecuente fue SCD^A, siendo la heterocigosidad observada mayor que la esperada, y se comprobó que este *locus* se muestra en estado de equilibrio Hardy-Weinberg. El *locus* DGAT1 presentó el alelo DGAT1^A más frecuentemente, observándose una desviación del estado de equilibrio Hardy-Weinberg ($p < 0,001$), con una disminución de la heterocigosidad observada con respecto a la esperada.

DISCUSIÓN

El comportamiento de las frecuencias alélicas del *locus* SCD en la raza Siboney de Cuba es similar a lo descrito en otras investigaciones, con predominio del alelo SCD^A. En el caso de estudios en animales de la raza Holstein la frecuencia del alelo SCD^A se encuentra entre 0,57 y 0,796 (Mele *et al.*, 2007; Komisarek y Dorynek, 2009; Signorelli *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2011; Mao *et al.*, 2012). Razas como la Jersey presentan valores de la frecuencia de SCD^A superiores a los antes mencionados, en el rango de 0,808 a 0,94 (Moioli *et al.*, 2007; Demeter *et al.*, 2009; Kgwatalala *et al.*, 2009b; Signorelli *et al.*, 2009). La mayor parte de las otras razas estudiadas presentan mayor frecuencia del alelo SCD^A (Taniguchi *et al.*, 2004; Schennink *et al.*, 2008; Matsushashi *et al.*, 2010). Se describen las

poblaciones de ganado Carmelita Italiano (Conte *et al.*, 2010) y ganado coreano Hanwoo (Maharani *et al.*, 2012) con valores en la frecuencia del alelo SCD^A inferior a 0,5.

La heterocigosidad observada en la raza Siboney fue ligeramente superior a la esperada en el *locus* SCD y tras la prueba exacta de equilibrio Hardy-Weinberg se observó que mantenía la condición de equilibrio. En la mayoría de los estudios consultados, el *locus* SCD se mantiene bajo la condición de equilibrio Hardy-Weinberg (Schennink *et al.*, 2008; Demeter *et al.*, 2009; Conte *et al.*, 2010; Maharani *et al.*, 2012; Mao *et al.*, 2012). Por otra parte, las poblaciones de ganado Negro Japonés (Taniguchi *et al.*, 2004) y Holstein Friesian Italiano (Mele *et al.*, 2007) se describen como fuera de esta condición de equilibrio, observándose en ambos casos un exceso de heterocigotos.

En el *locus* DGAT1, el alelo con mayor frecuencia es el DGAT1^A, lo cual era de esperar debido a la alta proporción de Holstein ($5/8$) por la que está formada la raza Siboney. El Girolando brasileño, que es otra raza híbrida, mostró a DGAT1^A como el alelo de mayor frecuencia (Cardoso *et al.*, 2011). En tal sentido los estudios realizados por Winter *et al.* (2002) y Lacorte *et al.* (2006) muestran que en las razas de *Bos taurus* el alelo DGAT1^A tiene las mayores frecuencias. Igualmente en los estudios de Kaupe *et al.* (2004), en los que se evaluó el polimorfismo K232A en 38 razas, se observó que en 31 de ellas la frecuencia del alelo DGAT1^A es superior a 0,5; en las siete razas restantes en las que predomina el alelo DGAT1^K se agrupan las tres poblaciones de *Bos indicus* y cuatro de las poblaciones con alto contenido de grasa en la leche, a partir de la clasificación realizada por Jensen (1995). Los estudios realizados en Holstein Friesian Alemán (Schennink *et al.*, 2008; Demeter *et al.*, 2009), ganado Carmelita Italiano (Conte *et al.*, 2010), Holstein Chino (Mao *et al.*, 2012), las tres razas estudiadas por Gautier *et al.* (2007) y las dos estudiadas por Näslund *et al.* (2008) mostraron que el alelo DGAT1^A tiene frecuencia predominante. En cambio, dos de las tres poblaciones de ganado neozelandés estudiadas por Spelman *et al.* (2002) y el Holstein Alemán (Kaupe *et al.*, 2007) mostraron a DGAT1^K como el alelo predominante.

Se aprecia una desviación del estado de equilibrio Hardy-Weinberg en la raza Siboney de

Cuba ($p < 0,001$) debido a un aumento del genotipo DGAT1^{AA}, lo que evidencia una disminución considerable de la heterocigocidad observada con respecto a la esperada. La condición de desequilibrio en el *locus* DGAT1 fue descrita en dos de las seis poblaciones estudiadas por Lacorte *et al.* (2006), mientras que en razas como el Holstein Friesian

Alemán (Schennink *et al.*, 2008; Demeter *et al.*, 2009), el ganado Carmelita Italiano (Conte *et al.*, 2010), el Girolando (Cardoso *et al.*, 2011) y el Holstein Chino (Mao *et al.*, 2012) se observa este *locus* bajo la condición de equilibrio Hardy-Weinberg.

Locus	Nombre	Oligonucleótidos (5'-3')	Fragmento Amplificado	Ta (°C) ^a	Enzima	Buffer Específico
SCD	SCD_F	ATTCTGGTTCCCTGGGAGCAG	257pb	54	BtsI	NEBufer 4
	SCD_R	GGCTTGCTCTTAAACCTGGAAT				
DGAT1	DGAT1_F	GCTTGCTCGTAGCTTTGGCAGGTCAG	210pb	61	Hpy188I	NEBufer 4
	DGAT1_R	GGGGAAGTTGAGCTCGTAGCACAGGG				

Tabla 1. Oligonucleótidos y enzimas de restricción empleadas en la amplificación de los fragmentos SCD y DGAT1.

^aTemperatura de alineamiento.

Locus	Alelos	Genotipos	H _o	H _e	P-valor
SCD	A	AA	0.821	0.172	1.000
	V	AV	0.172		
		VV	0.007		
DGAT1	A	AA	0.686	0.212	0.000***
	K	AK	0.212		
		KK	0.102		

Tabla 2. Frecuencias alélicas y genotípicas, heterocigocidad observada (H_o) y esperada (H_e) y prueba exacta de equilibrio Hardy-Weinberg.

*** $p < 0.001$

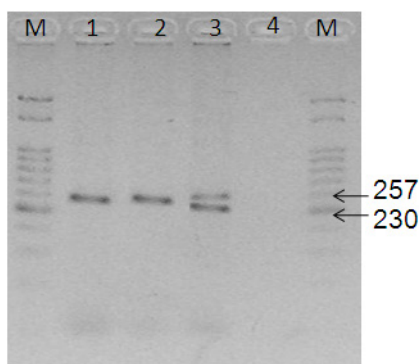


Figura 1. Amplificación y digestión de SCD, Línea M: MPM 50pb, Línea 1: producto amplificado, Línea 2: genotipos AA, Línea 3: genotipos AV, Línea 4: genotipos VV, Línea 5: control negativo.

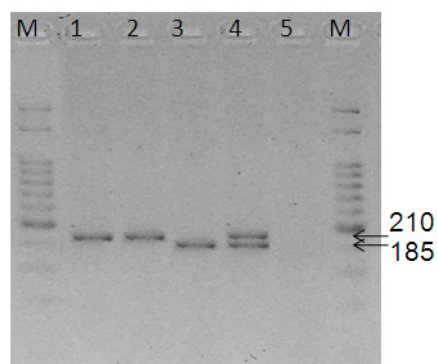


Figura 2. Amplificación y digestión de DGAT1 Línea M: MPM 50pb, Línea 1: producto amplificado, Línea 2: genotipos AA, Línea 3: genotipos KK, Línea 4: genotipos AK, Línea 5: control negativo.

CONCLUSIONES

Se identificaron las dos variantes alélicas en los *loci* estudiados. Los alelos SCD^A y DGAT1^A fueron los de mayor frecuencia en la población Siboney de Cuba. Se observó que el *locus* SCD se encuentra bajo la condición de equilibrio Hardy-Weinberg, no siendo así la condición para el *locus* DGAT1 ($p < 0,001$).

BIBLIOGRAFÍA

- Cardoso S.R., Queiroz L.B., Goulart V.A., Mourão G.B., Benedetti E., Goulart L.R. (2011) Productive performance of the dairy cattle Girolando breed mediated by the fat-related genes DGAT1 and LEP and their polymorphisms. *Research in Veterinary Science* 91: 107-112.
- Conte G., Mele M., Chessa S., Castiglioni B., Serra A., Pagnacco G., Secchiari P. (2010) Diacylglycerol acyltransferase 1, stearoyl-CoA desaturase 1, and sterol regulatory element binding protein 1 gene polymorphisms and milk fatty acid composition in Italian Brown cattle. *Journal of Dairy Science* 93: 753-763.
- Demeter R.M., Schopen G.C.B., Oude Lansink A.G.J.M., Meuwissen M.P.M., Van Arendonk J.A.M. (2009) Effects of milk fat composition, DGAT1, and SCD1 on fertility traits in Dutch Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 92: 5720-5729.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Gautier M., Capitan A., Fritz S., Eggen A., Boichard D., Druet T. (2007) Characterization of the DGAT1 K232A and Variable Number of Tandem Repeat Polymorphisms in French Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 90: 2980-2988.
- Jenkins T.C., McGuire M.A. (2006) Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal Dairy Science* 89: 1302-1310.
- Jensen R.G. (1995) *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, San Diego, USA.
- Kaupe B., Brandt H., Prinzenberg E., Erhardt G. (2007) Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science* 85: 11-21.
- Kaupe B., Winter A., Fries R., Erhardt G. (2004) DGAT1 polymorphism in *Bos indicus* and *Bos*

- taurus cattle breeds. *Journal of Dairy Research* 71: 182-187.
- Kgwatalala P.M., Ibeagha-Awemu E.M., Mustafa A.F., Zhao X. (2009a) Stearoyl-CoA desaturase 1 genotype and stage of lactation influences milk fatty acid composition of Canadian Holstein cows. *Animal Genetics* 40: 609-615.
- Kgwatalala P.M., Ibeagha-Awemu E.M., Mustafa A.F., Zhao X. (2009b) Influence of stearoyl-coenzyme A desaturase 1 genotype and stage of lactation on fatty acid composition of Canadian Jersey cows. *Journal of Dairy Science* 92: 1220-1228.
- Komisarek J., Dorynek Z. (2009) Effect of ABCG2, PPARGC1A, OLR1 and SCD1 gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls. *Journal of Applied Genetics* 50: 125-132.
- Lacorte G., Machado M., Martinez M., Campos A., Maciel R., Verneque R., Teodoro R., Peixoto M., Carvalho M., Fonseca C. (2006) DGAT1 K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. *Genet. Mol. Res.* 5: 475-482.
- Macciotta N.P.P., Mele M., Conte G., Serra A., Cassandro M., Dal Zotto R., Cappio Borlino A., Pagnacco G., Secchiari P. (2008) Association Between a Polymorphism at the Stearoyl CoA Desaturase Locus and Milk Production Traits in Italian Holsteins. *Journal of Dairy Science* 91: 3184-3189.
- Maharani D., Jung Y., Jung W., Jo C., Ryoo S., Lee S., Yeon S., Lee J. (2012) Association of five candidate genes with fatty acid composition in Korean cattle. *Molecular Biology Reports*. doi:10.1007/s11033-011-1426-6
- Mao Y.J., Chen R.J., Chang L.L., Chen Y., Ji D.J., Wu X.X., Shi X.K., Wu H.T., Zhang M.R., Yang Z.P., König S., Yang L.G. (2012) Effects of SCD1- and DGAT1-genes on production traits of Chinese Holstein cows located in the Delta Region of Yangtze River. *Livestock Science*. doi:10.1016/j.livsci.2011.12.019
- Matsushashi T., Maruyama S., Uemoto Y., Kobayashi N., Mannen H., Abe T., Sakaguchi S., Kobayashi E. (2010) Effects of FASN, SCD, SREBP1 and GH gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. *Journal of Animal Science*. doi: 10.2527/jas.2010-3121
- Mele M., Conte G., Castiglioni B., Chessa S., Macciotta N.P.P., Serra A., Buccioni A., Pagnacco G., Secchiari P. (2007) Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Gene Polymorphism and Milk Fatty Acid Composition in Italian Holsteins. *Journal of Dairy Science* 90: 4458-4465.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* 16: 12-15.
- Moioli B., Contarini G., Avalli A., Catillo G., Orrù L., De Matteis G., Masoero G., Napolitano F. (2007) Short Communication: Effect of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Polymorphism on Fatty Acid Composition of Milk. *Journal of Dairy Science* 90: 3553-3558.
- Morris C.A., Cullen N.G., Glass B.C., Hyndman D.L., Manley T.R., Hickey S.M., McEwan J.C., Pitchford W.S., Bottema C.D.K., Lee M.A.H. (2007) Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. *Mammalian Genome* 18: 64-74.
- Näslund J., Fikse W.F., Pielberg G.R., Lundén A. (2008) Frequency and Effect of the Bovine Acyl-CoA:Diacylglycerol Acyltransferase 1 (DGAT1) K232A Polymorphism in Swedish Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 91: 2127-2134.
- Raymond M., Rousset F. (1995) Genepop (Version-1.2) - Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- Rousset F. (2008) Genepop'007: a complete reimplementations of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources* 8: 103-106.

- Schennink A., Bovenhuis H., Léon-Kloosterziel K.M., Van Arendonk J.A.M., Visker M.H.P.W. (2009a) Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. *Animal Genetics* 40: 909-916.
- Schennink A., Stoop W.M., Visker M.H.P.W., Van der Poel J.J., Bovenhuis H., Van Arendonk J.A.M. (2009b) *Short communication*: Genome-wide scan for bovine milk-fat composition. II. Quantitative trait loci for long-chain fatty acids. *Journal of Dairy Science* 92: 4676-4682.
- Schennink A., Heck J., Bovenhuis H., Visker M., Van Valenberg H., Van Arendonk J. (2008) Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1). *Journal of Dairy Science* 91: 2135-2143.
- Schennink A., Stoop W.M., Visker M.H.P.W., Heck J.M.L., Bovenhuis H., Van Der Poel J.J., Van Valenberg H.J.F., Van Arendonk J.A.M. (2007) DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows. *Animal Genetics* 38: 467-473.
- Signorelli F., Orrù L., Napolitano F., De Matteis G., Scatà M.C., Catillo G., Marchitelli C., Moioli B. (2009) Exploring polymorphisms and effects on milk traits of the DGAT1, SCD1 and GHR genes in four cattle breeds. *Livestock Science* 125: 74-79.
- Spelman R.J., Ford C.A., McElhinney P., Gregory G.C., Snell R.G. (2002) Characterization of the DGAT1 Gene in the New Zealand Dairy Population. *Journal of Dairy Science* 85: 3514-3517.
- Taniguchi M., Utsugi T., Oyama K., Mannen H., Kobayashi M., Tanabe Y., Ogino A., Tsuji S. (2004) Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome* 14: 142-148.
- Wang X., Chen R., Yang Z., Mao Y., Ji D., Chen Y., Chang L., Li Y., Li R. (2011) Genetic Polymorphism of the SCD1 Gene and Its Associations with Milking Traits in Chinese Holstein. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*. doi: CNKI:SUN:XMSY.0.2011-07-019
- Winter A., Krämer W., Werner F.A.O., Kollers S., Kata S., Durstewitz G., Buitkamp J., Womack J.E., Thaller G., Fries R. (2002) Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 9300-9305.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer el soporte financiero brindado por el proyecto CAPES-MES 085-09, Brasil-Cuba para la realización de esta investigación. También agradecemos las facilidades brindadas por la Dirección Nacional de Genética y la Empresa Valle de Perú para la obtención de muestras del rebaño Siboney de Cuba.