

NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE

JF Medrano

Department of Animal Science, University of California, Davis, One Shields Ave., Davis, CA 95616-8521 U.S.A.

Key words: dairy genetics, genomics, milk technologies

La leche es el único material biológico que ha evolucionado con el único propósito de proveer nutrientes para el bienestar de los mamíferos en crecimiento. La sobrevivencia de la progenie ha puesto una fuerte presión de selección sobre el proceso de lactancia y una serie de moléculas que se producen en el epitelio de la glándula mamaria han sido identificadas que tienen la única función de mejorar el estado de salud de los infantes.

La parte de las ciencias biológicas que recientemente se ha denominado la ciencia o la iniciativa genómica (ver definición en el Apéndice), ofrece un enorme potencial para incrementar la producción y mejorar la calidad de los productos lácteos a través de nuevas tecnologías que permitirán el “mapeo” detallado del genoma de los animales.

La industria lechera ha sido líder en producción animal al aprovechar los frutos de nuevas técnicas estadísticas y biotecnológicas, y ello ha contribuido indudablemente a mantener el histórico crecimiento acelerado en el aumento de la producción lechera de un 2 por ciento anual por vaca (U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1991). Nuevas tecnologías para el mejoramiento de la producción, la salud, reproducción y el procesamiento de alimentos están siendo desarrolladas. Estas técnicas se usarán para mejorar la producción y la calidad de la leche, para desarrollar nuevos productos lácteos y para mejorar la calidad del hato y la salud de los animales. En la presente conferencia describiré algunas aplicaciones e investigaciones de nuevas tecnologías genéticas que se percibe tendrán un significativo impacto en la industria en los próximos años.

Temas a tratar:

- Mejora genética y estructura de la industria lechera
- Polimorfismos de las proteínas de la leche
- Identificación de genes cuantitativos: selección asistida por marcadores

MEJORA GENÉTICA Y ESTRUCTURA DE LA PRODUCCIÓN LECHERA

El mejoramiento genético del ganado lechero mediante la evaluación de toros y vacas a partir de registros de producción en programas nacionales de selección (NCDHIP, “National Cooperative Dairy Herd Improvement Program” en U.S.A), ha producido un significativo y consistente aumento en la producción de leche. Actualmente se estima que el aumento anual en valor genético de toros Holstein en Estados Unidos a sido de 107 kg. de leche/año, de 1970 a 1997 (datos de <http://aipl.arsusda.gov/>). Este cambio en mérito genético ha sido alcanzado principalmente mediante el análisis estadístico de registros de producción y la evaluación genética de reproductores utilizando el Modelo Animal. La **Figura 1** muestra en forma comparativa los cambios que han ocurrido en la industria lechera de California de 1950 a 1997 como resultado de dichos cambios en producción. La producción de leche ha aumentado de 3.299 a 12.500 Kg de leche por vaca por lactancia, y consistentemente puede proyectarse un incremento en la producción de 2 al 3% anual.

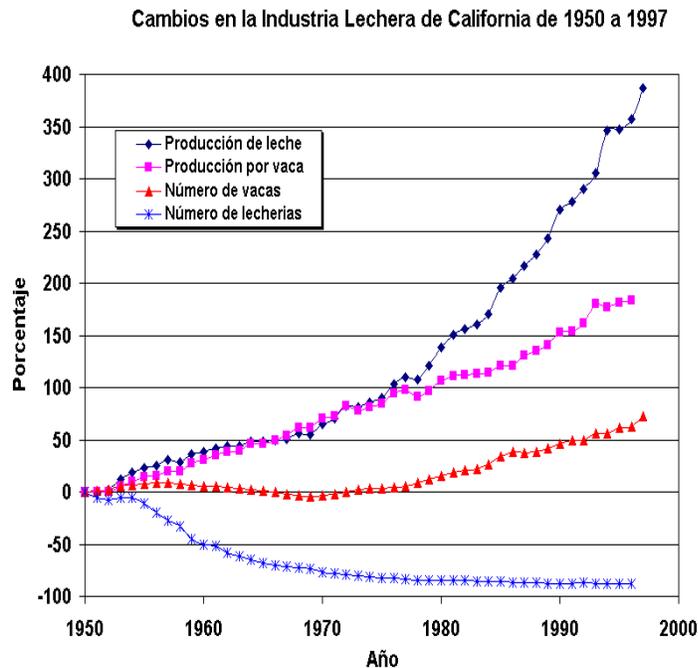


Figura 1 Cambios comparativos en la industria lechera de California de 1950 a 1997: producción de leche de 2.797 a 13.638 TM, producción por vaca de 3.299 a 12.500 kg, número de vacas de 777.000 a 1.360.000 y número de lecherías de 19.428 a 2.323 (19).

GENES MAYORES RELACIONADOS CON PRODUCCIÓN.

Un objetivo de gran importancia en los programas de mejora genética es el incremento de la eficacia de los métodos de selección mediante una precisa identificación de los genotipos superiores y la reducción de los intervalos generacionales. En este contexto, la creciente disponibilidad de genes caracterizados y clonados en especies domésticas permite la rápida identificación de variantes de interés para un carácter determinado, incluso en animales sin expresión fenotípica para el mismo, como la producción de leche en toros.

Aunque gran parte de los caracteres de interés productivo en las especies domésticas tienen una base hereditaria en la que participan muchos genes que en general no conocemos, existen algunos casos de genes individuales con un marcado efecto en caracteres de interés (genes mayores). Es frecuente la existencia de polimorfismo para estos genes, con variantes alélicas que determinan diferencias significativas en el fenotipo para el carácter. Existen varios genes mayores relacionados con enfermedades y otras características físicas que ya se han identificado en bovinos. A continuación se describe como ejemplo el caso de las variantes genéticas de las proteínas de la leche, lo cual tiene una relevancia directa con la utilización de la leche para la manufactura de quesos.

Proteínas de la leche:

Los efectos del polimorfismo sobre las propiedades físico-químicas y queseras de la leche, pueden ser de dos tipos: 1.- Efecto biológico directo de la variante proteica, por cambio en las características físico-químicas de la leche. 2.- Efecto cuantitativo directo de la mutación del gen, por variación en la tasa de síntesis de la proteína.

Polimorfismo de la k-caseína y la β -lactoglobulina bovinas:

En el ganado bovino se ha demostrado que las dos variantes más comunes de la k-CN (A y B) tienen diferentes efectos sobre las propiedades queseras de la leche y su estabilidad frente al calor. La variante B produce mayor cantidad total de k-CN en la leche (34). La cantidad de k-CN presente determina la estructura y tamaño de las micelas de caseína, las micelas pequeñas contienen una mayor proporción de k-CN que las grandes. De ese modo las micelas más pequeñas y uniformes de las vacas de genotipo k-CN BB son más termoestables y

forman un coagulo firme y denso que retiene más sólidos e incrementa el rendimiento en la manufactura de quesos.

Estas dos variantes A y B de κ -CN estan presentes en todas las razas bovinas estudiadas, pero el alelo A tiende a predominar en la mayor parte de ellas, con excepción de las razas Jersey. Las variantes A y B, tanto de la κ -CN como las de la β -LG, pueden distinguirse electroforéticamente a partir de muestras de leche, o a partir de muestras de DNA utilizando la técnica de PCR-RFLP (28, 29). La ventaja de la identificación al nivel del DNA es que puede realizarse con cantidades muy pequeñas de tejido y el diagnóstico es independientemente del sexo y la edad de los animales.

Las variantes A y B de la κ -CN difieren en dos posiciones aminoacídicas y la secuencia del gen revela que estos dos cambios son debidos a dos sustituciones nucleotídicas. El gen esta localizado en el cromosoma 6, en una región donde se ha confirmado la presencia de un QTL que afecta el porcentaje de proteína en la leche (ver la sección a continuación sobre mapeo de QTLs).

β -lactoglobulina (β -LG) es la proteína sérica más abundante en la leche de los rumiantes, capaz de unirse al retinol y probablemente responsable del transporte de la vitamina A. En el ganado bovino se han descrito cuatro variantes genéticas de esta proteína cuyo gen esta situado en el cromosoma 11, siendo los alelos A y B los más frecuentes en las razas lecheras.

De forma análoga a la κ -CN, las variantes de la β -LG determinan diferencias cualitativas y cuantitativas en el proceso de transformación de la leche en queso. Varios estudios (ver revision de 21) han puesto de manifiesto que las vacas con genotipo BB producen leche con un mayor contenido en grasa, caseínas y sólidos totales, probablemente relacionado con la menor cantidad de β -LG expresada por la variante B (27, 22).

Este incremento en el rendimiento quesero de las leches de tipo "B" (κ -CN BB/ β -LG BB) y la posibilidad de su diagnóstico molecular, permite plantear un incremento de la frecuencia de estos alelos favorables en las poblaciones de bovino lechero con producciones destinadas a la industria quesera.

En la Universidad de California en Davis actualmente se esta realizando un estudio formal de selección basado en la clasificación de las variantes genéticas de κ -CN y β -LG. El hato lechero de la Universidad se ha dividido en dos grupos, A y B. Las vacas en el grupo A se cruzan unicamente con toros AA, AA, y las del grupo B se cruzan con toros BB, BB o AB, BB, para κ -CN y β -LG, respectivamente. Despues de tres años la frecuencias han cambiado significativamente (**Tabla 1**), y este año esta planifica hacer una evaluacion inicial del rendimiento de queso con leches de ambos grupos de vacas.

Tabla 1 Frecuencias alélicas para los alelos A y B de la κ -CN y β -LG en la poblacion de ganado Holstein y en los hatos de selección de la Universidad de California en Davis, U.S.A.

Hato	Kappa-caseína		Beta-lactoglobulina	
	A	B	A	B
Población Holstein	.82	.18	.46	.54
Hato A (n = 80)	1.0	.00	.72	.28
Hato B (n = 75)	.59	.41	.28	.78

MAPEO DE GENES CUANTITATIVOS

La mayoría de las características de importancia económica en las especies domésticas son de naturaleza cuantitativa, es decir están influenciadas por la acción de muchos genes y el ambiente (Fenotipo=Genes+Ambiente). La selección genética se ha basado en información fenotípica, datos genealógicos y herramientas estadísticas. Con el advenimiento de la ciencia genómica y con el desarrollo de marcadores moleculares se han desarrollado varios proyectos de

investigación en diferentes partes del mundo para mapear e identificar los genes que afectan las características cuantitativas de importancia económica. Para este tipo de investigación el mapa genético del bovino tiene ya 2.692 loci identificados (BovMap), lo cual permite una amplia selección de marcadores para mapeo. El procedimiento consiste primero en obtener muestras de una población donde las características de interés estén segregando y genotipar la población con un panel de marcadores genéticos polimórficos que cubran todos los cromosomas. Luego por medio de análisis estadístico (análisis de varianza o máxima verosimilitud) se determina si el marcador o un intervalo entre marcadores esta asociado con el efecto de la característica (18, 25). En un proyecto de mapeo este es generalmente el primer paso, para luego proceder a un mapeo de mayor resolución y la identificación misma del gen responsable por el efecto cuantitativo. Además del interés científico, la identificación de QTL es de gran importancia pues permitirá incrementar la eficiencia de la selección genética de características de importancia económica a través de la Selección Asistida por Marcadores.

El desarrollo de los mapas genéticos se aceleró significativamente con la introducción de metodologías moleculares como la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el análisis de marcadores. Entre los marcadores polimórficos que han sido de mayor utilidad en este aspecto han sido los microsatélites, que son secuencias cortas repetidas (repeticiones de nucleótidos G+T) que se encuentran distribuidas en todo el genoma.

Neimann-Sorensen y Robertson (30) fueron los primeros en sugerir que la estructura de familias grandes de medio-hermanos que existen en la población comercial de ganado lechero podrían utilizarse para la identificación de QTL que estén segregando en la población. En las investigaciones actuales en ganado lechero se han utilizado principalmente dos diseños estadísticos para identificar QTLs: El Diseño de Hijas (Daughter Design) de Neimann-Sorensen y Robertson (30) y El Diseño de Nietas Paternas (Granddaughter design) de Weller et al. (35).

El Diseño de Hijas utiliza la información de marcadores moleculares y los valores fenotípicos de hijas que tienen un padre común (medio-hermanas) para detectar el efecto de QTLs.

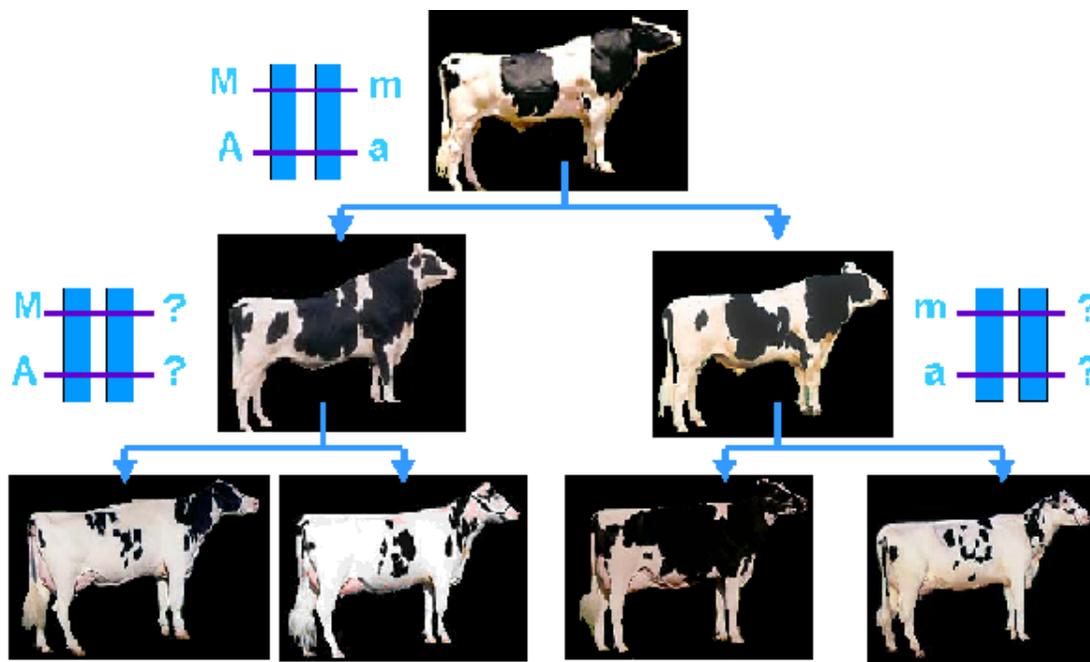


Figura 2 Diseño de Nietas Paternas (Granddaughter Design) par la identificación de QTL relacionados con características de importancia económica en ganado lechero. En el diagrama se muestra una familia de un toro "elite" (el abuelo) que es heterocigoto tanto para un marcador (M/m) como para un QTL en el mismo cromosoma. En el segundo nivel aparecen los hijos medios-hermanos a los cuales se les estima el valor cría a partir de los récords de

producción de sus hijas (las nietas del toro “élite”). En un ejemplo típico de mapeo (36) se analizaron 14 familias de toros medios-hermanos con un promedio de 128 toros por familia, genotipando un total de 1.794 toros con 246 microsatélites. Esta densidad de marcadores les permitió tener una cobertura promedio de 20 cM entre marcadores. El Diseño de Nietas Paternas (**Figura 2**) utiliza la información de marcadores moleculares y el valor de cría para características cuantitativas de toros medio-hermanos, el cual se estima a partir de los récords de producción y de salud de sus hijas. Estas hijas son las nietas paternas de un toro “élite” de la población. Los toros medio-hermanos generalmente se analizan con unos 200 marcadores moleculares (microsatélites) tratando de cubrir todos los cromosomas. El efecto de los alelos se evalúa con métodos estadísticos. La detección de efectos significativos entre los medio-hermanos indica que el toro abuelo “élite” era heterocigoto para el marcador y para un QTL.

A partir del estudio inicial realizado por Georges et al. (23) utilizando el Diseño de Nietas Paternas para detectar QTLs en la población Holstein de Estados Unidos varios estudios se han realizado en diferentes partes del mundo. La **Tabla 2** muestra un resumen de los QTL que se han identificado hasta la fecha en ganado lechero en los diferentes cromosomas. Al examinar varios estudios es posible empezar a confirmar la presencia común de algunos QTL, y su vez encontrar nuevos QTLs.

Como se muestra en la **Tabla 2**, se han encontrado varios QTL segregando en la población de ganado Holstein, pero esta información todavía no se ha incorporado en los esquemas de selección debido a las siguientes razones:

- 1) Muy pocos de los efectos reportados se han confirmado en muestras independientes al estudio original, por consiguiente algunos de los efectos pueden ser falsos (26). La mejor confirmación al presente ha sido la repetición de los mismos resultados en los varios estudios que se han realizado.
- 2) Aunque un QTL realmente este segregando en la población, este debe localizarse a un segmento cromosómico pequeño, y el efecto del alelo debe determinarse en animales individuales (32). La estimación incorrecta de los efectos de QTLs puede inclusive causar una reducción en la ganancia genética comparada con la selección fenotípica. Es necesario estimar el efecto del QTL sobre todas las características de valor económico. Aunque se encuentre un efecto positivo en relación con una característica económica, el efecto total podría ser negativo (20).
- 3) Es necesario determinar la frecuencia del QTL en la población. Sin esta información, podría dedicarse un gran esfuerzo en aumentar la frecuencia de un alelo, que ya está a una frecuencia alta en la población.
- 4) La idea es llegar al punto en que se pueda implementar la Selección Asistida por Marcadores (MAS) para la selección de toros jóvenes antes de hacer las pruebas de progenie y también para seleccionar núcleos élite de cría. Por consiguiente, existe un gran interés por parte de la industria para utilizar esta información en una forma práctica. De suma importancia es lograr identificar haplotipos de marcadores no recombinantes que flanqueen el QTL. Varios estudios han demostrado que la MAS puede aumentar la tasa de mejoramiento en un 10% (33). Además si se corrigen errores de registro genealógicos se podría inclusive incrementar la ganancia genética hasta 5% (31).

Tabla 2 Resumen de QTLs identificados en ganado lechero en varios estudios.

Cromosoma	Caracter*	Marcador	Posicion cM	Poblacion**	Referencia
1	PY	AGLA17-TGLA57*	50	HA	7
	MY		148	FA	12
2	FP, FY			HA	35
3	MY, FP, PP	TGLA263		HA	14
	FP	ILSTS96	22	HA	9
	PP	INRAA003		HI	11
	PP	TGLA263-AGLA247	< 10	HA	17
4	FP	AM1	90	SRB	10
	PP	RM188		HI	11
6	MY	C3H3-TGLA37	24	HA	7
	MY	BM1329	36	GN	8
	MY, PP		87	FA	12
	MY		40	HA	14
	MY	BM143-RM28	24	HA	17
	FP	BM1329	30	HA	7
	FP		< 30	HA	17
	PP		32	HA	7
	PP	TGLA37	13	HH	15
	PP	BM143-CSN3		HI	11
	PP	TGLA37-BM143	< 30	HA	17
	PP	BM415	126	HA	5
7	PP	ILSTS006		HI	11
9	FY		89	HA	17
	FY, PY		80	HA	7
10	PP	CSSM60		HA	14
14	FP		< 30	HH	6
	FP, FY	CSSM66		HA & HI	14
	FP	LLSTS39	2	HA	9
	FY	ILSTS39	1	HA	9
	PP	BM6425	87	HA	5
17	MY	TGLA170-TGLA322	> 190	HA	17
20	FP	TGLA126-TGLA153	28	HA	17
	PP		20	HA	7
	PP		66		1
	PP		93	FA	12
	PP		27	HA	17
23	FY			HA	2
26	FY		73	HA	2
	FP		73	HA	2
	FP	TGLA22-BM4505	15	HA	17
27	FY			HA	2
	MY	BM203		HA	4

*Caracter: MY=producción de leche, FY=cantidad de grasa, PY=cantidad de proteína
 FP=% de grasa, PP=% de proteína

**Población: FA=Ayrshire Finlandés, GN=Ganado Noruego, HA=Holstein USA, HH=Holstein
 Holandés, HI=Holstein Israelí, SRB=Raza Sueca Rojo y Blanco

RECONOCIMIENTOS:

Las investigaciones del autor han sido financiadas con fondos del "Dairy Managemnt Inc. and the California Dairy Research Foundation", U.S.A.

BIBLIOGRAFIA

Referencias de QTLs citadas en la Tabla 2:

- 1 Arranz JJ, Coppieters W, Berzi P, Cambisano N, Grisart B, Karim L, Marcq F, Moreau L, Mezer C, Riquet J, Simon P, Vanmanshoven P, Wagenaar D, Georges M (1998) A QTL affecting milk yield and composition maps to bovine chromosome 20: a confirmation. *Anim Genet* 29(2):107-15
- 2 Ashwell MS, Rexroad CE Jr, Miller RH, VanRaden PM (1996) Mapping economic trait loci for somatic cell score in Holstein cattle using microsatellite markers and selective genotyping. *Anim Genetics* 27: 235-242.
- 3 Ashwell MS, Da Y, Van Tassell CP, VanRaden PM, Miller RH, Rexroad CE, Jr (1998) Detection of putative loci affecting milk production and composition, health, and type traits in a United States Holstein population. *J Dairy Sci* 81:3309-3314.
- 4 Ashwell MS, Da Y, VanRaden PM, Reroad CE Jr, Miller RH 1998. Detection of putative loci affecting conformational type traits in an elite population of United States Holsteins using microsatellite markers. *J Dairy Sci* 81:1120-1125.
- 5 Ashwell MS, Van Tassell CP (1999) Detection of putative loci affecting milk, health, and type traits in a US Holstein population using 70 microsatellite markers in a genome scan. *J Dairy Sci* 82:2497-2502.
- 6 Coppieters W, Riquet J, Arranz JJ, Berzi P, Cambisano N, Grisart B, Karim L, Marcq F, Moreau L, Nezer C, Simon P, Vanmanshoven P, Wagenaar D, Georges M (1998) A QTL with major effort on milk yield and composition maps to bovine chromosome 14. *Mammalian Genome* 9: 540-544.
- 7 Georges M, Nielsen D, Mackinnon M, Mishra A, Okimoto R, Pasquino AT, Sargeant LS, Steele MR, Zhao X, Womack JE, Hoeschele I (1995) Mapping quantitative trait loci in controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics* 139: 907-920.
- 8 Gomez-Raya L, Klungland H, Vage DL, Oslaker L, Fimland E, Klemetsdal G, Renningen K, Lien S (1998) Mapping QTL for milk production traits in Norwegian cattle. *6th World Cong. of Genet. Appl. Livest. Prod.* 26:429-432. Armidale.
- 9 Heyen DW, Weller JI, Ron M, Band M, Beever JE, Feldmesser E, Da Y, Wiggans GR, VanRaden PM, Lewin HA (1999) A genome scan for QTL influencing milk production and health traits in dairy cattle. *Physio Genomics* 1: 165-175,
- 10 Lindersonn M, Andersson-Eklund L, deKoning DJ, Lunden A, Maki-Tanila A, Andersson L (1998) Mapping of serum amylase-1 and quantitative trait loci for milk production traits to cattle chromosome 4. *J Dairy Sci* 81: 1454-1461.
- 11 Lipkin E, Mosig MO, Darvasi A, Ezra E, Shalom A, Friedmann A, Soller M (1998) Quantitative trait locus mapping in dairy cattle by means of selective milk DNA pooling using dinucleotide microsatellite markers: Analysis of milk protein percentage. *Genetics* 149: 1557-1567.
- 12 Maki-Tanila A, deKoning DJ, Elnö K, Moisiö S, Velmala R, Vilkki J (1998) Mapping of multiple quantitative trait loci by regression in half sib designs. *6th World Cong. of Genet. Appl. Livest. Prod.* 26: 269-272. Armidale.
- 13 Reinsch N, Xul N, Thomsen H, Looft C, Kalm E, Grupe S, Kuhn C, Schwerin M, Leyhe B, Hiendleder S, Erhard D, Medjugirac I, Russ I, Forster M, Brenig B, Reents R, Averdund G (1998) First results on somatic cell count loci from the ADR bovine mapping project. *6th World Cong. of Genet. Appl. Livest. Prod.* 26: 426-428. Armidale.
- 14 Ron M, Heyen DW, Weller JL, Band M, Feldmesser E, Pasternak H, Da Y, Wiggans GR, VanRaden PM, Ezra E, Lewin HA (1998) Detection and analysis of locus affecting milk concentration in the US and Israeli dairy cattle populations. *6th World Cong. of Genet. Appl. Livest. Prod.* 26: 422-425. Armidale.
- 15 Spelman RJ, Coppieters W, Karim L, vanArendonk JAM, Bovenhuis H (1996) Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome six in the Dutch Holstein-Friesian population. *Genetics* 144: 1799-1808.
- 16 Vilkki HJ, deKoning DJ, Elnö K, Velmala R, Maki-Tanila A (1997) Multiple marker mapping of quantitative trait loci of Finnish dairy cattle. *J Dairy Sci* 80: 198-204.

- 17 Zhang Q, Boichard D, Hoeschele I, Ernst C, Eggen A, Murkve B, Pfister-Genskow M, Witte LA, Grignola FE, Uimari P, Thaller G, Bishop MD (1998) Mapping quantitative loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics* 149: 1959-1973

Otras referencias citadas en el trabajo:

- 18 Beckmann JS and M Soler (1988) Detection of lineage between marker loci affecting quantitative traits in crosses between segregating populations. *Theor. Appl. Genet.* 76: 228-236.
- 19 California Dairy Information Bulletin, February (1999) Vol. LV - No. 12, Calif. Agric. Stat. Services. and Dairy Marketing Branch, Sacramento, CA.
- 20 de Koning GJ and JI Weller (1994) Efficiency of direct selection on quantitative trait loci for a two-trait breeding objective. *Theor. Appl. Genet.* 88:669-677.
- 21 FitzGerald RJ (1997) Exploitation of casein variants. In Milk Composition, Production and Biotechnology. Ed. RAS Welch, DJW Burns, SR Davis, AI Popay and CG Prosser. CAB International.
- 22 Folch, JM, P Dovc and JF Medrano (1999). Differential expression of bovine β -lactoglobulin A and B promoter variants in transiently transfected HC11 cells. *J. Dairy Res.* 66:537-544.
- 23 Georges M, D Nielsen, M Mackinnin, A Mishra, R Okimoto et al. (1995) Mapping quantitative trait loci in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics* 139: 907-920.
- 24 Klungland H, DI Våge, L Gomez-Raya, S Adalsteinsson, and S Lien (1995). The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mamm. Genome* 6: 636-639.
- 25 Lander ES and D Bolstein (1989). Mapping Medelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- 26 Lander ES and L Kruglyak (1995) genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nature Genet.* 11: 241-247.
- 27 Lum, LS, P Dovc and JF Medrano (1997). Polymorphisms of bovine beta-lactoglobulin promoter and differences in the binding affinity of activator protein-2 transcription factor. *J. Dairy Sci.* 80:1389-1397.
- 28 Medrano, J.F. and E. Aguilar-Cordova, (1990a) Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *Bio/Technology* 8:144-146.
- 29 Medrano, J.F. and E. Aguilar-Cordova, (1990b) Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. *Animal Biotechnology* 1:73-77
- 30 Neimann-Sorensen A and A Robertson (1961) The association between blood groups and several production characters in three Danish cattle breeds. *Acta. Agr. Scanda.* 11: 163-196.
- 31 Ron M, Y Blanc, M Band, E Ezra and (1996) Misidentification rate in the Israeli dairy cattle population and its implication for genetic improvement. *J. Dairy Sci.* 79:676-681.
- 32 Spelman R and JAM van Arendonk (1997) Effect of inaccurate parameter estimates on genetic response to marker assisted selection in an outbred population. *J. Dairy Sci.* 80: 3399-3410.
- 33 Spelman R and H Bovenhuis (1998) Genetic response from marker assisted selection in an outbred population for differing marker bracket sizes and with two identified quantitative trait loci. *Genetics* 148: 1389-1396.
- 34 Van Eenennaam, AL, and JF Medrano (1991) Differences in allelic protein expression in the milk of heterozygous kappa-casein cows. *J. Dairy Sci.* 74:1491-1496.
- 35 Weller JI, Y Kashi, and M Soller (1990) power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 2525-2537.
- 36 Zhang Q, D Boichard, I Hoeschele, C Ernst, A Eggen, B Murkve, M Pfister-Genskow, LA Witte, FE Grignola, P Uimari, G Thaller, and MD Bishop (1998) mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics* 149: 1959-1973.
-