

LA CALIDAD de la Leche

MEJORAMIENTO GENÉTICO



Ayrshire

V. Francisco Uribe
 Profesor Pecuario / Gobernación de Antioquia
Peranza Trujillo Bravo
 Bióloga M.S.c. en Genética

Tradicionalmente, el mejoramiento genético de la población del ganado lechero se ha realizado por la evaluación y selección de toros y vacas utilizando pruebas de progeñie y a partir de los registros de producción.

La evaluación de toros utilizando en estas pruebas es bastante precisa pero requiere un periodo de espera para obtener por lo menos, registros parciales de la lactancia de las hijas aumentando el intervalo de tiempo entre generaciones.

Con el advenimiento de las nuevas tecnologías moleculares se ha mejorado las posibilidades de identificación de animales superiores en la selección de toros jóvenes, lo que reduce el costo en los programas de mejoramiento, ya que en pocas horas se detecta el genotipo del animal y se establece si es o no portador del gen de interés. Estos métodos pueden ser utilizados para identificar

MEJORAMIENTO GENÉTICO



Criolla Caquetena

Una

de las principales características de la leche como fluido biológico es su alto contenido en proteínas que determinan en gran medida el valor nutritivo y tecnológico de la misma. El contenido de proteína puede variar por factores como el estado de lactación, la alimentación, el manejo y los sistemas de ordeño, pero principalmente por factores genéticos, (raza y genotipo individual).

de forma rápida y precisa el genotipo de cualquier individuo a partir de células presentes en muestras de semen, sangre e incluso leche y en animales de cualquier sexo o edad (Medrano, Aguilar Córdova).

La clasificación de los genotipos relacionados con la producción en animales de lechería mediante técnicas moleculares, se ha generalizado en la industria lechera de U.S.A. y es una evaluación que se realiza en forma rutinaria en los toros que se utilizan para inseminación artificial.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

El gen es una entidad relativamente estable, pero está sujeto a cambios ocasionales de su secuencia. Estos cambios se denominan mutaciones que pueden o no generar alteraciones en la secuencia de la proteína a la que codifica.

Cuando una mutación ocurre en un gen, su nueva forma o variante genética se hereda de la misma manera que la forma original normal de éste. Un gen que tiene 2 o más variantes genéticas se denomina polimórfico.

Los polimorfismos pueden ser determinados con técnicas moleculares como son PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y RFLP (Polimorfismos de Longitud en Fragmentos de Restricción).

PROTEÍNAS LÁCTEAS

Una de las principales características de la leche como fluido biológico es su alto contenido en proteínas que determinan en gran medida el valor nutritivo y tecnológico de la misma. El contenido de proteína puede variar por factores como el estado de lactación, la alimentación, el manejo y los sistemas de ordeño, pero principalmente por factores genéticos (raza y genotipo individual).

En la leche de los rumiantes existen 6 proteínas principales que suponen más del 90% del total y se clasifican en 2 grandes grupos (Kanamori, 1980):

El primer grupo está conformado por las caseínas (CN) que tienen particular importancia en las cualidades de la leche (Van Eennenaar, 1991). Representan con los lípidos el componente principal de la materia prima en la transformación de la leche en queso (Schaar, 1985).

De las caseínas la más importante es la kappa - CN, la cual se agrega en partículas coloidales esféricas, las micelas, cuya concentración explica aproximadamente un 50% de las variaciones de la calidad de la leche en la transformación quesera (tiempo de coagulación y gelificación); además, una relación caseína-materia grasa elevada, favorece la retención de agua en el queso aumentando los rendimientos (Marzialli, 1986).

La k-CN presenta 2 importantes variantes: k-CN-A y k-CN-B (Schmidt, 1964). La variante B determina una mayor cantidad de k-CN (Gibson, 1990) formando micelios pequeños y uniformes, lo que produce un coágulo firme y denso que retiene sólidos e incrementa el rendimiento en la manufactura del queso (Marzialli, 1986) y además aumenta en un 3% la cantidad de proteína.

La variante A en cambio, está asociada con una menor cantidad de k-CN en la composición de la leche (Morini, 1975), determinando la formación de micelios grandes los cuales contienen una menor proporción de k-CN, lo que disminuye los rendimientos en la calidad y fabricación del queso.



MEJORAMIENTO GENÉTICO

Las variantes proteicas de k-CN, A y B, están determinadas genéticamente por los genes A y B respectivamente (Grosclaude, 1988), se encuentran presentes en todas las razas bovinas estudiadas, pero la k-CN -A tiende a predominar en la mayor parte de ellas, con excepción de las razas Jersey y Normanda (Schlee, 1992).

En la siguiente tabla se presentan las frecuencias de las variantes genéticas A y B encontradas por Van Eenennaam en poblaciones de Holstein y Jersey en USA:



Simental y Holstein

| | Frec. de la variante genética A | Frec. de la variante genética B |
|----------|---------------------------------|---------------------------------|
| Holstein | 0.82 | 0.18 |
| Jersey | 0.14 | 0.86 |

El segundo grupo está conformado principalmente por Alfa-lactalbúmina (Ω -LA) y Beta-lactoglobulina (β -LG) (Eigel).

La proteína β -LG influye en el rendimiento quesero al quedar retenida en la superficie de las micelas de caseína una vez desnaturalizada por el tratamiento térmico de la leche (Grosclaude, 1988).

En el ganado bovino se han descrito 4 variantes de esta proteína, siendo las variantes A y B las más frecuentes en el ganado lechero (Wilkins, 1992). Las cuales están determinadas genéticamente por los alelos A y B respectivamente (Aleandri, 1990).

De forma análoga a la k-CN, las variantes de la β -LG determinan diferencias cualitativas y cuantitativas en el proceso de la transformación de la leche en queso.

La variante B incrementa en un 9% la producción de queso (Graham, 1984), un mayor contenido de grasa y un menor tiempo de coagulación comparada con la variante A (Van Eenennaam, 1991).

Las variantes genéticas A y B, tanto de k-CN como de B-LG, determinan genotipos AA, AB y BB en las diferentes razas bovinas, siendo BB el genotipo asociado con la mejor calidad de queso. Estos genotipos tradicionalmente se han distinguido utilizando muestras de leche, lo que limita a hembras lactantes la determinación del

genotipo, y en el caso de un toro el análisis de muestras de leche de su progenie requiere de 5 a 6 años. Por tanto, el poder de técnicas moleculares de análisis de DNA para estos genes con independencia del sexo y edad del individuo, resulta de un gran interés, ya que reduce a sólo horas el diagnóstico del genotipo que posee el animal en relación con la calidad de la leche. **Fig. 1**

El procedimiento de PCR o de amplificación es una técnica molecular, esencialmente permite sintetizar en pocas horas millones de copias de un segmento específico de un gen a partir de una pequeña cantidad de DNA. Es tan precisa y sensible que la cantidad de DNA presente en una célula es suficiente para realizar la prueba.

Como resultado de la amplificación se puede determinar la presencia o ausencia de la secuencia específica de DNA de interés, la cual puede analizarse para detectar los llamados polimorfismos.

El análisis de polimorfismos se puede hacer fácilmente, cortando en fragmentos de diferente tamaño el amplificado con enzimas llamadas "Endonucleasas de Restricción", que reconocen secuencias específicas dentro del DNA amplificado, que pueden observarse por electroforesis. **Fig. 2**

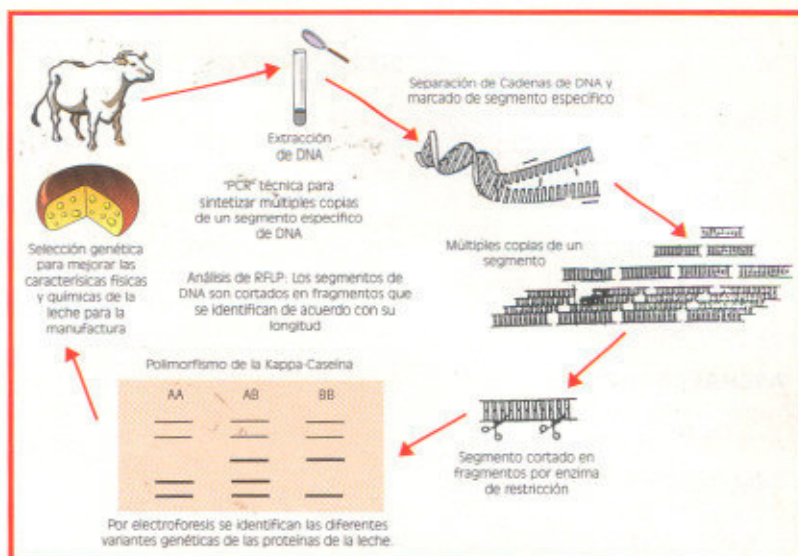


Figura 1
Diagrama de procedimiento de análisis de una muestra de DNA para clasificar polimorfismos de la Kappa - Caseína

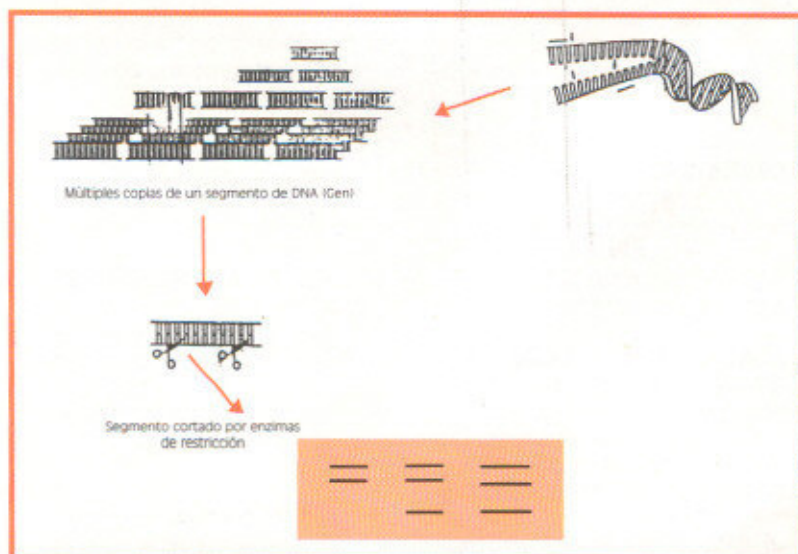


Figura 2
Por Electroforesis se identifica las diferentes variantes genéticas de las proteínas de la leche

BIBLIOGRAFÍA

- ALEANDRI R. BUTTAZONI L.G.** 1990. The effects of milk protein polymorphism on milk components and cheese producing ability. *J.Dairy Sci.* 73:241-255.
- ARCHIBALD A.L.** 1994. Mapping of the pig genome. *Current opinion in genetics & Development.* 4:395 - 401.
- ASCHAFENBURG R. DREWRY J.** 1957. Genetics of the B-Lactoglobulins of cow's milk. *Nature.* 180:386.
- ASCHAFENBURG R.** 1968. Genetic variation of milk proteins. *J. Dairy Res.* 35:447-460.
- BARENDSE W.** 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics.* 6: 227-235.
- BLECK G.T. BREMEL R.D.** 1994. Variation in expression of a bovine Alfa-lactalbumina Transgene in milk of transgenic mice *J. Dairy Sci.* 77. 1897-904.
- CLARK A.J.** 1992. Prospects for the genetic engineering of milk. *J.Cell Biochem.* 49: 121-127.
- DAVIES K.E. TILGHMAN S. M.** 1992. *Genome Analysis vol 4* Cold Spring Harbor Laboratory Press. (Estrategias para la identificación de caracteres cuantitativos).
- DENICOURT D. SABOT M. MAGALLISTER A. J.** 1990. Detection of bovine k-casein genomic by the Polymerase Chain Reaction Method. *Anim. Genet.* 21: 215-216.
- DI GREGORIO P. RANDO A.** 1991. DNA polymorphism at the casein loci in sheep. *Animal Genetics.* 22:21-30.
- EIGEL W.N. BUTLER J.E.** 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk. Fifth revision. *J.Dairy Sci.* 67:1599-1631.
- GIBSON J.P ROZZI P.** 1990. The use the K-casein genotypes in Dairy Cattle breeding. *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest Prod. -Edinburgh Scotland XIV:163.*
- GORDON K. LEE E. VITALE J.A.** 1987. Production of human plasminogen activator in transgenic mouse milk. *Bio/Tecnology.* 39:89-94.
- GORODESTKIY S.I. KALEDIN A.S.** 1987. Nucleotide sequence analysis of cow K-casein cDNA. *Genetika.* 23: 596-604.
- GRAHAM E. R. B. MC LEAN D. ZVIEDRANS P.** 1984. The effect of milk protein genotypes on the chessemaking properties of milk and the yield of cheese. *Proc. 4th Conf. Aust. Assoc. anim. Breed. Genet. (Adelaide, S. Australia)* 136.
- GROSCLAUDE F.** 1988. Le polymorphisme génétique des principaux lactoproteins bovines. *INRA Prod. Anim.* 1: 5-17.
- GROVES M.L.** 1969. Some minor components of casein and other phosphoproteins in milk. *A. Review J.Dairy Sci.* 52:1155-1165.
- GUTIÉRREZ A. MEADE H. DITULLIO P.** 1996. Expression of a bovine K-CN cDNA in the mammary gland of transgenic mice utilizing a genomic milk protein gene as a expression cassette. *Transgenic research.* 5 271-279.
- HINES H.C.** 1990. Genetic markers for quantitative trait loci Dairy Cattle. *Proc. 4th World Congr. Genetic Appl. Livest Prod. Edinburgh Scotland XIII: 121.*
- HOJ.S. FREDHOLM M. LARSEN N.J.** 1993. Growth hormone gene Poly morphism asociated with selection for milk fat production in lines of cattle. *Animal Genetics.* 24:91-96.
- JADOT L. LALOUX J. BURNY A. KETTMANN R.** 1992. Detection of bovine beta-lactoglobulin genomic variants by the polymerase chain reaction method and molecular hybridization. *Anim. Genet.* 23: 77-79.
- JAMIESON A.C. VANDEYAR M.A. KANG Y.C.** 1987. Cloning and nucleotide sequence of the bovine B-lactoglobulin gene. *Gene.* 61: 85-90.
- KANG Y. RICHARDSON J.** 1988. Molecular cloning and expression of bovine K-casein in E. Coli. *J. Dairy. Sci.* 71:29-40.
- KANAMORI M. KAWAGUCHI F.** 1980. Attachment sites of carbohydrate moieties to peptide chain of bovine K-casein from normal milk. *Agric. Biol. Chem.* 44: 1855.
- KAWASAKI E.S.** 1990. Sample preparation from blood cells, and other fluids. In: *PCR Protocols* Academic Press Inc. San Diego California. pp. 146-152.
- LEE K.F. ATIEE S.H. ROSEN J.M.** 1989. Differential regulation of rat B-casein Chloramphenicol acetyl transferasa fusion gene expression in transgenic mice. *Mol. Cell. Biol.* 9:560-565.
- MACKINLAY A.G. Wake R.** 1971. K-casein and its attack by rennin (chimosyn) In: *Milk proteins. Chemistry and molecular biology.* H.A. Mackenzie Academic Press. N.Y.

- MC LEAN D.M.**, Graham D.R.B., Ponzoni R.W. 1984. Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. *In: J. Dairy Res.* 51:531.
- MARZIALI A.S.** 1986. Effects of milk composition and genetic polymorphism on coagulation properties of milk. *In: J. Dairy Sci.* 69: 1793-1798.
- MASCHIO A. BRECKELL M.** 1991. Transgenic mice carrying the guinea - pig Alfa- lactalbumin gene transcribe milk protein genes in their sebaceous glands during lactation. *In: Biochem J.* 275: 459-467.
- MEDRANO J.F. (A) AGUILAR CORDOVA E.** 1990. Polymerase Chain reaction amplification of bovine B- lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. *In: Animal Biotechnology* 1:73-77.
- MEDRANO J.F. (B) AGUILAR CORDOVA** 1990. Genotyping of bovine Kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *In: Biotechnology.* 8: 144-146.
- MISZTAL Y. WIGGANS G.R.** 1988. Approximation of prediction error, variance in large - scale animal models. *In: J. Dairy Sci.* 71 (suppl 2) 27.
- MORINI D. LOSI G.B. CASTAGNETTI M.** 1975. Influenza delle varianti genetiche della K-caseina sulla dimensioni delle micelle caseiniche. *In: Sci. Lech. Latt. Cas.* 26: 437.
- NEELIN J.M.** 1964. Variants of k-casein revealed by improved starch gel electrophoresis. *In: J. Dairy Sci.* 47: 506-509.
- PERSUY M.A. STINNAKRE R.L.** 1992. High expressions of the caprine B-CN gene in transgenic mice. *Eur. J. Biochem.* 205: 887-893.
- PINDER J. PERRY B. SKIDMORE C. SAAVA D.** 1991. Analysis of polymorphism in the casein genes by use of the Polymerase Chain Reaction. *In: Anim. Genet.* 22: 11-20.
- RON M. EZRA Y.** 1994. Determination of effects of milk protein genotype on production Traits of Israeli Holstein. *In: J. Dairy Sci.* 77: 1106-1113.
- RUSSO V. MARIANI P.** 1978. Polimorfismo delle proteine del latte e relazioni tra varianti genetiche e caratteristiche di interesse zootecnico tecnologico e caseario. *In: Revista di Zootecnia e Veterinaria.* 5: 1-31.
- RUSSO V. DAROT. V.** 1985. Varianti genetiche delle proteine del latte. Consorzio Parmiziano-Regigano. *In: Reggio Emilia.* Sept. 1985. 5-70.
- SCHMIDT D.G.** 1964. Variants of k- casein revealed by improved starch gel electrophoresis *In: Biochem. Biophys. Acta.* 90: 411-414.
- SCHMIDT D.G.** 1980. Colloidal aspects of casein. *In: Neth. Milk. Dairy. J.* 34:42.
- SCHAAR J.** 1984. Effects of K-casein genetic variants and lactation number of the renneting properties of individual milks. *In: J. Dairy Rev.* 51:397.
- SCHLEE P. ROTTMANN O.** 1992. Identification of bovine K-casein C using the polymerase chain reaction. *In: J. Anim. Breed Genet.* 109:153-155.
- SCHLIEBEN S. SENFT B.** 1991. Genotyping of Bovine K-casein (c-CN-A, c-CN-B, c-CN-C, c-CN-D) following DNA sequence amplification and direct sequencing of c-CN-E PCR product. *Anim. Genet.* 22: 233-342.
- SIMONS J.P. MCCLENAGHAN M.** 1987. Alteration of the quality of milk by expression of sheep B-Lactoglobulin in transgenic mice. *Nature.* 328: 530-532.
- STEVENSON E. M. LEAVER J.** 1994. Chromatographic separation of the proteins of milk. *Int. Dairy J.* 4: 205-220.
- VAN EENENNAAM A. MEDRANO J.F.** 1991 (a). Differences in allelic protein expression in the milk of heterozygous k-casein cow's. *J. In: Dairy Sci.* 74: 1491-1496.
- VAN EENENNAAM A. MEDRANO J.F.** 1991 (b). Milk protein polymorphisms *In: California Dairy cattle.* *J. Dairy Sci.* 74: 1730-1742.
- WILKINS R. J. KRYS Y.M.** 1992. Rapid B-Lactoglobulin genotyping of cattle using the polymerase chain reaction. *In: Anim. Genetic.* 23: 175-178.
- WHITELAW C.B.A. HARRIS S.** 1992. Position - independent expression of bovine B- Lactoglobulin gen in transgenic mice. *In: Biochem. J.* 286: 31-39.
- YORM H.G. BREMELD R.D.** 1993. Genetic engineering of milk composition: Modification of milk components in lactating transgenic animals. *In: Am. J. Clin. Nutr.* 8 (suppl.) 299-306.
- ZADWORN D. KUHNLEIN U.** 1990. The identification of the alfa- casein genotype in Holstein Dairy cattle using the polymerase chain reaction. *In: Theor. Appl. Genet.* 80: 631.