

## Simposio

# Frecuencias genotípicas y alélicas de los genes de *CSN3* y Lactoglobulina B en un rodeo de bovinos Criollos en Argentina

*Poli, M.A. ; Holgado, F.D. ; Rabasa, A.E.*

### RESUMEN

Una de las características del bovino Criollo de Argentina es la gran adaptación a diferentes ambientes y su variabilidad genética, por lo que constituye un recurso valioso para llevar a cabo planes de mejoramiento hacia producciones especializadas. En bovinos, está suficientemente documentado los efectos de las variantes genéticas de las proteínas de la leche sobre las propiedades en la manufactura y rendimiento quesero. En este trabajo se describen las frecuencias genotípicas y alélicas para el gen de la caseína K (*CSN3*) y de la lactoglobulina B ( $\beta$ -Lg) en un rodeo de bovinos Criollos, y se analiza su evolución desde la década del 80 a la fecha.

Los genotipos se determinaron por la técnica de PCR-RFLP en 89 vacas Criollas. Las frecuencias alélicas para el gen *CSN3* fueron: alelo A (0,70) y alelo B (0,30) y para el gen  $\beta$ -Lg fueron: alelo A (0,36) y alelo B (0,64). Con el objeto de constituir un núcleo "elite" con altas frecuencias para el gen *CSN3*, se simula la evolución de las frecuencias alélicas, a través de apareamientos dirigidos. Luego de cinco años, con una reposición del 10% de las hembras y de la utilización de toros homocigotas B/B, las nuevas frecuencias serían: *CSN3* A=0,08 y B=0,92. Asumiendo que el alelo B del gen *CSN3* incrementa el rendimiento quesero en un 5%, el aumento neto en este rodeo, luego de cinco años, sería de 3,1 %.

**Palabras clave:** caseínas lactoglobulinas frecuencias genotípicas bovinos Criollos.

### SUMMARY

The Creole cattle in Argentina is well adapted to different environments and its genetics variability become a valuable genetic resource to implement breeding programs. The effects of milk proteins allelic variants on rheological and yield cheese is well documented in cattle. In this paper we describe the genotype and allelic frequencies of K casein (*CSN3*) and B Lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) and we simulate the allelic frequencies changes in five years after a assortative mating system. The DNA of 89 cows was extracted by conventional methods and the PCR-RFLP technique was used to genotype animals. The allelic frequencies for *CSN3* gen were: A (0,70), B (0,30) and for  $\beta$ -Lg gen A (0,36) and B (0,64). After five years by assortative mating with *CSN3* B/B bulls and 10 % of replacement with B/B heifers the *CSN3* allelic frequencies will be A=0,08 y B=0,92. Assuming that the *CSN3* B allele increase the yield cheese about 5% the net yield after five years with this scheme, the cheese yield could be increased to 3,1 %.

**Key words:** casein lactoglobulin genotypic frequencies Creole cattle.

### INTRODUCCIÓN

La importancia de los recursos zoogenéticos comenzó a ser enfatizada por la FAO, a nivel mundial, desde principios de los '80. Los bovinos son una parte fundamental para la mayoría de los sistemas agropecuarios, en especial para pequeños productores para los cuales la vaca forma parte de su economía de subsistencia.

El tipo de material genético requerido en los diversos ambientes y sistemas difiere dentro del país y entre regiones. Sin embargo, el mejoramiento animal enfati-

zó el desarrollo de una o pocas razas a expensas de otras. Este desarrollo genético fue hecho en sistemas de producción con altos insumos para altas producciones. Peor aún, este material genético muy especializado fué introducido a menudo muy rápidamente a sistemas de producción con bajos insumos y alto impacto ambiental (i.e. temperaturas extremas, humedad, parasitosis, etc.), produciendo en la mayoría de los casos el deterioro de las razas locales bien adaptadas y en definitiva un beneficio neto menor.

El bovino Criollo de Argentina es el que descende de los primeros bovinos traídos por los españoles durante el período de colonización y que luego de más de 400 años de selección natural se adaptaron a todo el país, desde el norte con clima subtropical hasta el sur patagónico.

En Argentina, el ganado bovino Criollo principalmente de la región pampeana, fue cruzado con razas de origen británico hacia fines del siglo XIX y desplazado hacia regiones marginales donde los bovinos importados no podían sobrevivir.

<sup>1</sup>Instituto de Genética, CICVyA-INTA, cc 25, 1712, Castelar, Argentina. Tel.: 54 11 44500805. E-mail: mpoli@cnia.inta.gov.ar.

<sup>2</sup>CER Leales-INTA. Argentina.

<sup>3</sup>CONICET-Fac. de Agr. y Zootecnia, UNT, Argentina.

Una de las principales características del ganado bovino Criollo de Argentina es su gran variabilidad (i.e. diferentes colores de capa, polimorfismos genéticos) (10,12), lo que permitiría conducir planes de mejoramiento adecuados a las necesidades locales y dentro de la raza hacia un tipo de producción especializada, como por ejemplo “leches de calidad diferenciada”.

La concentración de las proteínas de la leche es una de las principales variables que determina el rendimiento quesero. Aunque son varios los factores que influyen en la misma, tales como: alimentación, estado de salud, lactancia, época del año, etc., hasta el momento, la mejor opción para mejorar el nivel de las proteínas de la leche de una manera estable es por medio de la genética.

Numerosas investigaciones han demostrado que cuando se incrementa la cantidad de litros de leche por vaca, disminuye el porcentaje de la grasa y de las proteínas. Los minerales y la lactosa casi no sufren modificaciones. Existe una tendencia mundial a revertir este proceso y en la obtención de leches de calidad ricas en proteínas y con menores tenores de grasa.

En este trabajo se describen las frecuencias genotípicas y alélicas para el gen de la caseína K (*CSN3*) y de la lactoglobuli-

na B ( $\beta$ -Lg) en el rodeo actual de bovinos Criollos del Campo Experimental Regional (CER) de INTA en Leales (Tucumán, Argentina). Dado que este estudio se había realizado con anterioridad en dos oportunidades, se analiza la evolución de las frecuencias génicas en los últimos veinte años. Teniendo en cuenta la influencia del alelo B del gen *CSN3* sobre el porcentaje de proteínas y el rendimiento quesero, se simula la evolución de las frecuencias alélicas de este gen con el objeto de constituir un rodeo “elite” con altas frecuencias del alelo B y se estima el incremento neto en el rendimiento quesero.

### PROTEÍNAS DE LA LECHE: GENÉTICA, ANTECEDENTES

Las principales proteínas de la leche son las cuatro caseínas ( $\alpha$ s1;  $\alpha$ s2;  $\beta$  y  $\kappa$ ) y las dos proteínas del suero ( $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina).

Las caseínas, también llamadas proteínas del queso, constituyen el 80 % del total de las proteínas de la leche. Las caseínas se agrupan en pequeñas partículas esféricas conocidas como micelas. La *CSN3* es la responsable de la estabilidad micelar y su proporción determina el tamaño de las micelas, por lo tanto estos componentes tienen una incidencia importante en las propiedades que-

seras de la leche: micelas pequeñas aumentan la velocidad de coagulación y producen una cuajada mas firme.

Todas estas proteínas tienen variantes genéticas que son transmitidas por simple herencia mendeliana sin dominancia. La posibilidad de usar las variantes de las proteínas de la leche como herramientas de la selección para predecir el valor de un individuo, ha conducido a nivel mundial a numerosos estudios.

La revisión bibliográfica demuestra que los resultados son heterogeneos relacionando las variantes proteínicas y producción total de litros de leche. Sin embargo, los efectos de las variantes genéticas sobre las propiedades en la manufactura de quesos fue siempre consistente y existen relaciones definitivamente positivas entre algunas de las variantes y rendimiento de queso. Las leches conteniendo las variantes B de *CSN3* y de  $\beta$ -lactoglobulina mejoran la cantidad de las proteínas y rinde del queso del 6-8 % respecto de las leches que contienen las variantes A.

En los Cuadros 1 y 2 resumen los resultados de las principales investigaciones relacionadas con las proteínas de la leche.

Como la mayoría de los resultados expuestos en los Cuadros 1 y 2 provienen

**Cuadro 1.** Porcentaje de proteínas.

Estudio	McLean, 1984 (3)	Ng-Kwai-Hang 1984 (8)	Ng-Kwai-Hang 1986 (9)	Aleandri, 1986 (1)	VanEenennaan 1991 (16)
<i>CSN3</i>	ns	** B>A	** B>A	** B>A	B>A
$\beta$ -Lg	ns	** B>A	** B>A	ns	ns

B>A: B mayor que A                      \*\* P< .01, \*P< .05,                      ns: no significativo

**Cuadro 2.** Producción de queso.

Estudio	Schaar 1985 (14)	Marziali 1986 (5)	Morini 1979 (7)	Mariani 1976 (4)	Tong 1994 (15)
<i>CSN3</i>	-	** B>A	** B>A	** B>A	** B>A
$\beta$ -Lg	** B>A	** B>A	-	-	** B>A

B>A: B mayor que A                      \*\* P< .05

de estudios comparativos entre leches de vacas con *CSN3* B/B y  $\beta$ -Lg B/B versus *CSN3* A/A y  $\beta$ -Lg A/A, y otros parámetros fueron más medidos, de estos trabajos también se puede resumir que al procesar las leches de los animales con genotipo B/B para ambos genes, éstas presentan las siguientes características: 1.- mayor rendimiento quesero (aproximadamente 6-8 %), 2.- mayor proporción de caseínas (más 6 %), 3.- menor tiempo para la formación de la cuajada (30 %), 4.- mayor estabilidad al calentamiento y 5.- mayor firmeza de la cuajada.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizaron 89 vacas que formaban el rodeo del CER Leales del INTA (Julio 2002). Una muestra de sangre total fue extraída con EDTA disódico como anticoagulante y el ADN fué extraído por técnicas convencionales.

Las variantes alélicas de los genes *CSN3* y  $\beta$ -Lg fueron determinadas con la técnica PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphisms) empleando los primers diseñados por Medrano & Aguilar-Cordova, (6). Las frecuencias genotípicas y

alélicas fueron determinadas por conteo directo y las diferencias con las frecuencias de los estudios previos fueron estimadas por un test de independencia.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias genotípicas y alélicas del presente trabajo (n=89) fueron comparadas con las de trabajos previos en el mismo rodeo que se realizaron a partir de la década del 80 (2, 12, 15). En los Cuadros 3 y 4 se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas para los genes *CSN3* y  $\beta$ -Lg, respectivamente.

Las frecuencias alélicas no fueron significativamente diferentes entre los trabajos para el gen de la *CSN3* ( $X^2 = 4,57$ ; GL=6, n.s.). Sin embargo, para el gen  $\beta$ -Lg se observa un decrecimiento de la frecuencia de alelo A causada por la disminución de los homocigotas A/A y Heterocigotas A/B ( $X^2 = 71,01$ ; GL=6,  $P < 0.05$ ) (Cuadro 4). Probablemente como sucede en grupos de animales con apareamientos dirigidos y número reducido de machos, el efecto de algún padre homocigota B/B haya sido de alta influencia.

En base a la información de el Cuadro 3, se simuló la evolución en un rodeo

(n=100) para el gen de la *CSN3* dando comienzo en julio del año 2002 y con el objeto de constituir un núcleo "elite" con altas frecuencias del alelo B para el gen *CSN3* en una primera etapa. Los supuestos que se mencionan a continuación se ajustaron a las normas de manejo del CER Leales y disponibilidad de animales para un período de 5 años:

- 1.- se conoce el genotipo de todos los animales,
- 2.- reposición del 10 % de hembras con genotipo B/B,
- 3.- uso de toros B/B y
- 4.- anualmente genotipado de 100 animales.

El Cuadro 5 muestra la distribución y evolución de los tres genotipos en el rodeo y en la Figura 1 se muestran los cambios en las frecuencia alélicas a través de los años.

Con el estado actual del rodeo y una inversión tota de 800 genotipos, en 5 años se incrementaría la frecuencia del alelo B de *CSN3* en un 62 %.

Asumiendo que el alelo B incrementa el rendimiento quesero en un 5 %, el aumento neto en este rodeo sería del 3,1 %.

**Cuadro 3.** Frecuencias genotípicas y alélicas en el gen *CSN3*.

Raza	Genotipos			Alelos	
	AA	AB	BB	A	B
Criollo (actual)	0,483	0,427	0,090	0,70	0,30
Criollo (11)	0,559	0,385	0,056	0,75	0,25
Criollo (13)	0,500	0,441	0,059	0,72	0,28

Entre paréntesis se referencia el origen de los datos.

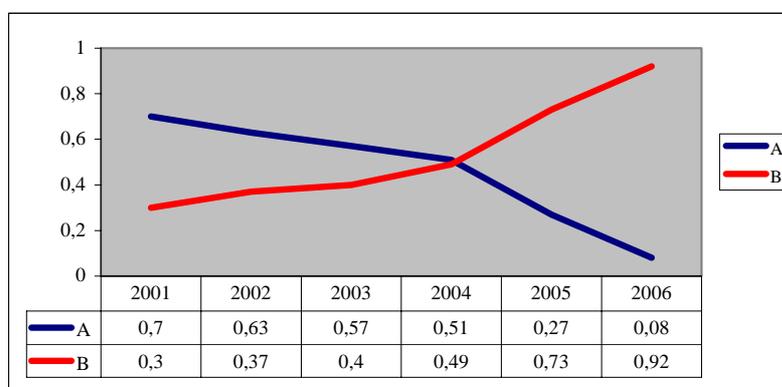
**Cuadro 4.** Frecuencias genotípicas y alélicas en el gen  $\beta$ -Lg.

Raza	Genotipos			Alelos	
	AA	AB	BB	A	B
Criollo (actual)	0,114	0,489	0,397	0,36	0,64
Criollo (11)	0,297	0,392	0,310	0,49	0,51
Criollo (2)	0,144	0,557	0,299	0,42	0,58

Entre paréntesis se referencia el origen de los datos.

**Cuadro 5.** Evolución de las frecuencias genotípicas para el gen *CSN3*.

Año/Rodeo Base (n=100)	Genotipos		
	AA	AB	BB
Julio2002	48	43	9
Nov/Dic02	43	39	18
2003	39	35	26
2004	35	32	33
2005	13	29	58
2006	0	16	84



**Figura 1.** Evolución de las frecuencias alélicas para el gen *CSN3*.

### Referencias Bibliográficas

- Aleandri, R.; Buttazzoni, L.G.; Schneider, J.V.; Caroli, A.; Davoli, R.** (1990). The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *J. Dairy Sci.* 73:241.
- Fernández, F.M.; Rabasa, A.E.; Sal Paz, F.P.** (1986). Variantes genéticas de beta-lactoglobulinas en ganado bovino Criollo. *En: Ganado Bovino Criollo*, pp 159-163. Ed. Subcomité Asesor del Arido Subtropical Argentino de la Secretaría de Ciencia y Técnica y Oportación Gráfica Editora S.R.L.
- McLean, D.M.; Graham, E.R.B.; Ponzoni, R.W.; McKenzie, H.A.** (1984). Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. *J. Dairy Res.* 51:531.
- Mariani, P.; Losi, G.; Russo, V.; Castagnetti, G.B.; Grazia, L.; Morini, D.; Fossa, E.** (1976). Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A o B della k-caseina nell produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 27:208.
- Marziali, A.S.; Ng-Kwai-Hang, K.F.** (1986). Relationship between milk protein polymorphisms and cheese yielding capacity. *J. Dairy Sci.* 69:1193.
- Medrano, J. F; Aguilar-Cordova, E.** (1990). Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *Bio/Technology.* 84:144.
- Morini, D.; Losi, G.; Castagnetti, G. B.; Mariani, P.** (1979). Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della k-caseina: rilievi sul formaggio stagionato. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 30:243.
- Ng-Kwai-Hang, K.F.; Hayes, J.F.; Moxley, J.E.; Monardes, H.G.** (1984). Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 67:835.
- Ng-Kwai-Hang, K.F.; Hayes, J.F.; Moxley, J.E.; Monardes, H.G.** (1986). Relationship between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Frisian cattle. *J. Dairy Sci.* 69:22.
- Poli, M.A.** (1991). Factores sanguíneos: aspectos comparativos en bovinos nativos de Brasil y Criollo de Argentina. Resultados preliminares. *En: Ganado Bovino Criollo. Tomo 2.* pp 77-85. Ed.: Asociación Argentina de Criadores de

- 
- 
- Ganado Bovino Criollo y Orientación Gráfica Editora S.R.L.
- 11. Poli, M.A.; Antonini, G.** (1991). Genetic structure of milk proteins in Argentinian Holstein and Argentinian Creole cattle. *Hereditas*. 115:177-182.
- 12. Rabasa, C.R.; Sal Paz, A.E.; Sal Paz, F.P.; Bergmann, F.J.; Rabasa, S.L.** (1976). Genética de pelajes en bovinos Criollos. *Mendeliana* 1 (2): 81-90.
- 13. Sal Paz, A.E.; Fanjul, A.N.; Fernández, F.M.** (1984). Polimorfismo genético de k-caseína y concentración de proteínas lácteas en ganado bovino Criollo. *RANA* 20 (1-4): 63-76.
- 14. Schaar, J.; Hanson, B.; Pettersson, H.** (1985). Effects of genetic variants of k-casein and b-lactoglobulin on cheesemaking. *J.Dairy Res.* 52:429.
- 15. Tong, P.S.; Vink, S.; Frankye, N.Y.; Medrano, J.F.** (1994). Effect of genetic variants of milk proteins on the yield of Cheddar cheese. *Proc. International Dairy Federation on Cheese Yield and Factors Affecting its Control*, pp 179-187; April 19-21, Cork, Ireland.
- 16. Van Eenennaam, A.L.; Medrano, J.F.** (1991). Milk protein polymorphisms in the California dairy cattle population. *J.Dairy.Sci.* 74:1730-1742.