

NOTA BREVE

FORMACIÓN DE UN PLANTEL BASE DE GANADO BOVINO CRIOLLO ARGENTINO PARA PRODUCCIÓN LECHERA. EFECTO SOBRE LAS FRECUENCIAS GÉNICAS DE LOS *LOCi* DE K-CASEÍNA, α_{S1} -CASEÍNA Y PROLACTINA¹

FORMATION OF A FOUNDATION HERD OF ARGENTINE CREOLE CATTLE FOR MILK PRODUCTION. EFFECT ON K-CASEIN, α_{S1} -CASEIN AND PROLACTIN GENE FREQUENCIES¹

Ripoli, M.V.¹, G. Giovambattista¹, J.C. De Luca¹, F. Labarta², J. Echenique², S. Casas², E. Carrizo², M. Sánchez Mera² y F.N. Dulout¹

¹Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA). Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). 60 y 118 S/N. C.C. 296 (1900) La Plata. Argentina. ggiovam@fcv.medvet.unlp.edu.ar

²Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy. Bolivia 1239. 4600 San Salvador de Jujuy. Argentina.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Selección.

ADDITIONAL KEYWORDS

Selection.

RESUMEN

Se seleccionaron 38 vientres y un toro de raza Criollo Argentino (ACc), para establecer un plantel base destinado a un plan de mejora lechera de esta raza. Con el fin de evaluar el efecto de dicha selección sobre *loci* asociados con producción lechera, se caracterizaron los polimorfismos presentes en los *loci* de α_{S1} -caseína, κ -caseína y prolactina, tanto en los animales pertenecientes al grupo seleccionado (38 animales) como en los pertenecientes al rodeo general (78 animales). Los resultados obtenidos sólo evidenciaron un aumento significativo de la variante C de α_{S1} -caseína en el rodeo seleccio-

nado. Las diferencias observadas podrían ser consecuencias del efecto de la selección ejercida al establecerse el grupo base. Sería necesario realizar estudios familiares y de correlación con caracteres de producción para confirmar que las variaciones observadas en las frecuencias alélicas se deben a la asociación de los marcadores genéticos estudiados con QTLs de producción lechera.

SUMMARY

With the objective of establishing a foundation group to carry out a dairy improvement plan of Argentine Creole cattle (ACc), thirty-eight dam and one sire belonging to this breed were selected. In order to evaluate such selection effect on *loci* associated with dairy production, polymorphisms

¹Financiado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC), el Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) y la Universidad Nacional de La Plata (U.N.L.P.).

RIPOLI ET AL.

of α_{s1} -casein, κ -casein and prolactin were characterized in selected population (38 animals), as well as unselected population (78 animals). These results only revealed a significant increase of the α_{s1} -casein C variant in selected population. The observed differences could be consequence of the effect of the selection. Families studies would be necessary to confirm that the observed differences were consequence of the association between these molecular markers with QTLs for milk production.

INTRODUCCIÓN

En las últimas cuatro décadas, se han puesto de manifiesto asociaciones entre marcadores genéticos y caracteres de producción lechera. Existen evidencias que permiten correlacionar algunas variantes de las proteínas de la leche (κ -caseína, β -caseína, α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína, α -lactoglobulina y β -lactoglobulina) y de la prolactina (PRL) con el rendimiento y composición del producto obtenido (Boland *et al.*, 1992; Lin *et al.*, 1986; Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1990; Cowan *et al.*, 1990).

El estudio de marcadores genéticos se ha llevado a cabo en gran medida en razas altamente seleccionadas donde la variabilidad está muy reducida. En Argentina existe una raza criolla de bovinos con alto grado de variabilidad genética por no haber soportado una alta presión de selección artificial.

Como consecuencia de muchos años de selección natural, el ACc se adaptó a una amplia variedad de condiciones ambientales, desarrollando una gran variabilidad fenotípica, altos niveles de longevidad y fertilidad, además de una alta resistencia a enfermedades subtropicales (Sal Paz, 1986).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la primera etapa de selección (formación del plantel base) de ACc lecheros sobre las frecuencias génicas de tres *loci* asociados a la producción lechera. La selección de animales lecheros adaptados a condiciones subtropicales, tendría un importante efecto sobre las economías del Noroeste Argentino (NOA).

MATERIAL Y MÉTODOS

POBLACIONES ESTUDIADAS

Rodeo General de animales no seleccionados

Correspondió a la población de la estación Zootécnica Subtropical Arroyo del Medio (EEAM), ubicada en el monte chaqueño de transición, en el sudeste de la provincia de Jujuy.

Selección y adquisición de animales para el proyecto lechero.

Para establecer un plantel base para la selección de bovinos Criollos lecheros se seleccionaron 32 vientres y un toro de la EEAM y se adquirieron 6 animales a productores locales de la provincia de Jujuy. Actualmente este plantel se encuentra localizado en la Estación Experimental El Remate (EEER).

El ganado proveniente de las estaciones experimentales fue seleccionado según pesos al destete logrados por los vientres durante su vida productiva, biotipo, antecedentes genealógicos y otros antecedentes lecheros obtenidos en las estaciones experimentales. Para comprar las vacas a productores se consideraron los antecedentes su-

Archivos de zootecnia vol. 48, núm. 181, p. 102.

PLANTEL BASE DE BOVINO CRIOLLO ARGENTINO PARA PRODUCCIÓN LECHERA

ministrados por ellos, el fenotipo, conformación y suspensión de las ubres; tamaño, orientación y pigmentación de los pezones; ausencia de pezones supernumerarios y temperamento de los animales (Carrizo, 1995).

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se obtuvieron 116 muestras de sangre periférica de bovinos de raza ACc pertenecientes a las poblaciones de EEAM (78 animales) y de EEER (38 animales). El ADN se obtuvo mediante extracción con Chelex® (Walsh *et al.*, 1991).

Técnicas de tipificación de los marcadores genéticos

K-CASEÍNA (CASK): Para amplificar el cuarto exón del gen de CASK se utilizó la técnica de Agrawala *et al.* (1992). Posteriormente, alícuotas de los productos de amplificación (8 µl) fueron digeridas con las enzimas *Hinf* I (5 U) y *Hind* III (5 U) (Promega, Madison, WI). Los fragmentos de digestión se resolvieron en geles de poliacrilamida al 6 p.100 (19:1)-TBE 1x.

α_{SI}-CASEÍNA (CASα_{SI}) Y PRL: Para la caracterización de los *loci* de CASα_{SI} y PRL en forma simultánea se modificó la técnica de PCR alelo específico (ASPCR) descrita por David y Deutch (1992). Como control positivo de amplificación se utilizaron los oligonucleótidos descritos por Lewin *et al.* (1992) para amplificar el tercer exón del gen de prolactina.

Una alícuota de los productos de amplificación (5 µl) fue corrida en geles de poliacrilamida al 6 p.100 (19:1) - TBE 1x. Los alelos de CASα_{SI} fueron resueltos por presencia o ausencia de amplificación. Para carac-

terizar los alelos de PRL, otra alícuota (8 µl) fue digerida con la enzima de restricción *Rsa* I (5 U) (Promega, Madison, WI). Los fragmentos de digestión fueron resueltos en geles de poliacrilamida al 6 p.100 (19:1) - TBE 1x.

METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Se calcularon las frecuencias génicas y genotípicas para cada uno de los *loci* seleccionados. La comparación entre las frecuencias génicas observadas en los dos rodeos fue realizada mediante χ^2 y método binomial de comparación de dos proporciones (Zar, 1984). Las frecuencias genotípicas fueron comparadas mediante tablas de contingencia.

RESULTADOS

En la **tabla I** se detallan los valores de las frecuencias génicas y genotípicas de los *loci* de CASK, CASα_{SI} y PRL calculadas para el rodeo seleccionado de la EEER y para el rodeo general de la EEAM. En todos los casos las frecuencias genotípicas se hallaban en equilibrio de Hardy-Weinberg (χ^2 CASα_{SI}= 0,862; 0,5 > p > 0,25 - χ^2 CASK= 1,082; 0,5 > p > 0,25 - χ^2 PRL=0,002; 0,975 > p > 0,95).

La comparación de las frecuencias génicas y genotípicas correspondientes a los dos grupos analizados puso de manifiesto que:

CASα_{SI}: La frecuencia génica para el alelo B en el rodeo general fue cercana al 70 p.100. El grupo seleccionado evidenció frecuencias semejantes para ambos alelos (B y C), lo que implica un aumento significativo de la variante C (y por lo tanto una disminu-

RIPOLI ET AL.

ción del alelo B) con respecto al rodeo general ($\chi^2 = 6,350$; $0,025 > p > 0,01$; $Z = 2,948$; $0,01 > p > 0,001$) (**tabla I**). De la misma manera la comparación de las frecuencias genotípicas correspondientes a ambos rodeos evidenció diferencias significativas ($\chi^2 = 7,111$; $0,05 > p > 0,01$).

CASK: Tanto en el rodeo general, como en el grupo seleccionado las frecuencias génicas para las variantes A y B fueron similares, no encontrándose diferencias significativas entre ambas poblaciones ($\chi^2 = 0,134$; $0,50 < p < 0,75$; $Z = 0,503$; $0,5 < p$) (**tabla I**). La comparación de las frecuencias genotípicas correspondientes a ambos rodeos no evidenció diferencias significativas ($\chi^2 = 2,260$; $0,5 > p > 0,25$).

PRL: En los dos rodeos la variante

b se encontró cercana a la fijación, siendo las frecuencias génicas para el alelo B inferiores al 5 p.100 en ambos grupos. Como resultado de esto no se encontraron diferencias significativas entre el grupo seleccionado y el rodeo general ($\chi^2 = 0,614$; $0,25 < p < 0,50$; $Z = 1,198$; $0,20 < p < 0,5$) (**tabla I**). La comparación de las frecuencias genotípicas correspondientes a ambos rodeos no evidenció diferencias significativas ($\chi^2 = 0,863$; $0,5 > p > 0,25$).

DISCUSIÓN

Numerosos estudios han tenido como objetivo principal el análisis de las relaciones entre las razas. Baker y Manwell (1980), Medjugorac *et al.*

Tabla I. Frecuencias génicas y genotípicas observadas para los loci de κ -caseína, α_{s1} -caseína y prolactina en el rodeo general y el grupo seleccionado. (Gene and genotypic frequencies obtained for κ -casein, α_{s1} -casein and prolactin in the selected and unselected herds).

	Frecuencias génicas ¹		Frecuencias genotípicas ²			N
	alelo B	alelo C	BB	BC	CC	
α_{s1}-caseína						
Rodeo	alelo B	alelo C	BB	BC	CC	
Seleccionado	0,5	0,5	0,207	0,586	0,207	38
General	0,685	0,315	0,476	0,417	0,107	78
κ-caseína						
Rodeo	alelo A	alelo B	AA	AB	BB	
Seleccionado	0,556	0,444	0,259	0,593	0,148	38
General	0,585	0,415	0,296	0,577	0,127	78
Prolactina						
Rodeo	alelo b	alelo B	BB	Bb	bb	
Seleccionado	0,964	0,036	0	0,071	0,929	38
General	0,982	0,018	0	0,036	0,964	78

¹Diferencias entre las frecuencias génicas de los grupos: $\chi^2 = 6,350$; $0,025 > p > 0,01$.

²Diferencias entre las frecuencias genotípicas de ambos rodeos: $\chi^2 = 7,111$; $0,05 > p > 0,01$.

PLANTEL BASE DE BOVINO CRIOLLO ARGENTINO PARA PRODUCCIÓN LECHERA

(1994) sostienen que los procesos de selección no han modificado las frecuencias génicas originales que serían consecuencia de la historia particular de cada raza, sus movimientos migratorios y distribución geográfica actual.

No obstante, la comparación de las frecuencias génicas de toros utilizados en inseminación artificial durante las décadas del 50 y del 60, con toros de la misma población utilizados en la década del 80 evidenció diferencias para distintos *loci* (Velmalá *et al.*, 1993; Yao *et al.*, 1996).

En el presente trabajo, la comparación entre la EEAM y la EEER evidenció diferencias significativas en las frecuencias génicas del *locus* de $CAS\alpha_{s1}$, y diferencias no significativas para los *loci* de *CASK* y *PRL*. Esto indicaría que la formación del plantel base resultó en una modificación de las frecuencias génicas correspondientes al *locus* de $CAS\alpha_{s1}$ en el rodeo seleccionado con respecto al general.

Las frecuencias génicas de una población pueden verse modificadas por factores tales como endocría, deriva génica, selección, etc. Las diferencias observadas en el presente estudio, no serían consecuencia de la endocría ya que el análisis de los pedigrís muestra niveles equivalentes en ambos rodeos.

Por otra parte, la selección sólo podría actuar si la sustitución de un alelo por otro implica una variación en el *fitness* del animal (Bovenhuis y Weller, 1994). A nivel poblacional, estudios de la *performance* productiva, han puesto de manifiesto que los individuos con genotipo $CAS\alpha_{s1}BB$ tienen un rendimiento en leche significativamente mayor que los animales BC (Lin

et al., 1986). Estas observaciones indicarían una fuerte correlación de la presencia del alelo B con mayor producción lechera, así como mayor cantidad de grasa y proteínas (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984, 1990).

En la mayoría de las razas europeas seleccionadas para producción lechera, el alelo B se encuentra próximo a la fijación. Sin embargo, el grupo de bovinos Criollos seleccionados presentó un aumento significativo en la frecuencia del alelo C con respecto al rodeo general.

La leche producida por animales de razas europeas, de genotipo *CASKBB* contiene mayores niveles de k-caseína, de grasa y de sólidos totales (Boland *et al.*, 1992). Este fenotipo ha sido correlacionado además con un mayor rendimiento en litros de leche (Lin *et al.*, 1986). Por otra parte, Cowan *et al.* (1990) estudiaron los polimorfismos de la *PRL* por medio de la técnica de RFLP y establecieron su relación con caracteres de producción de leche. Sin embargo, en el presente trabajo las frecuencias génicas correspondientes a los *loci* de *CASK* y *PRL* no evidenciaron diferencias significativas entre el grupo seleccionado y el rodeo general. Si se considera que el ligamiento entre el QTL y el marcador genético es incompleto, podrían existir en la población diferentes haplotipos marcador-QTL, por lo que los efectos estimados del QTL se podrían ver sesgados por efecto de la recombinación.

La correlación entre el alelo $CAS\alpha_{s1}C$ y una mayor producción lechera en la raza ACc, debería ser confirmada aumentando el número de animales caracterizados y a través de estudios familiares, donde se relacione

RIPOLI ET AL.

dicho marcador genético con los caracteres cuantitativos. De esta manera, podría determinarse la presencia de haplotipos $CAS\alpha_{s1}$ -QTL característi-

cos para dicha raza y confirmar que las diferencias observadas en el presente trabajo se deberían al proceso de selección y no a un error de muestreo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrawala, P.L., V.A. Wagner and Geldermann. 1992. Sex determination and milk protein genotyping of preimplantation stage bovine embryos using multiplex PCR. *Theriogenology*, 38: 969-978.
- Baker, A.C.M. and C. Manwell. 1980. Chemical classification of cattle. I. Breed groups. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.*, 11: 127-150.
- Boland, M.J., J.P. Hill and L.K. Creamer. 1992. Genetic manipulation of milk proteins and its consequences for the dairy industry. *Australasian Biotechnology*, 2: 355-360.
- Bovenhuis, H. and J.I. Weller. 1994. Mapping and analysis of dairy cattle quantitative trait *loci* by maximum likelihood methodology using milk protein genes as genetic markers. *Genetics*, 137: 267-280.
- Carrizo, E.N. 1995. Informe de avance del proyecto SeCTER/UNju A-49.1. Mejoramiento del Bovino Criollo como Productor de Leche en la Región Subtropical del NOA.
- Cowan, C.M., M.R. Dentine, AX, R.L. and L.A. Scchuler. 1990. Structural variation around prolactin gene linked to quantitative traits in an elite Holstein sire family. *Theor. Appl. Genet.*, 79: 577-582.
- David, V.A. and A.H. Deutch. 1992. Detection of α_{s1} -casein genomic variants using the allele-specific polymerase chain reaction. *Anim. Genetics*, 23: 425-429.
- Lewin, H.A., K. Schmitt, R. Hubert, M.J.T. Van Eijk and N. Arnheim. 1992. Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: Genetics mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics*, 13: 44-48.
- Lin, C.Y., A.J. Mc. Allister, K.F. Ng-Kwai-Hang, and J.F. Hayes. 1986. Effects of milk protein *loci* on first lactation production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 69: 704-712.
- Medjugorac, I., W. Kustermann, P. Lazar, I. Russ and F. Pirchner. 1994. Marker-derived phylogeny of European cattle supports demic expansion of agriculture. *Animal Genetics*, 25: 19-27.
- Ng-Kwai-Hang, K.F., G. Monardes and J.F. Hayes. 1990. Association between genetic polymorphism of milk proteins and traits during three lactations. *J. Dairy Sci.*, 73: 3414-3420.
- Sal Paz, F.P. 1986. El ganado Criollo Argentino definiciones y características. En: Primera Jornada Nacional de Ganado Bovino Criollo 1: 3-7.
- Velmala, R., E.A. Mäntysaari and A. Maki-tanila. 1993. Molecular genetic polymorphism at the -casein and -lactoglobulin *loci* in Finnish dairy bulls. *Agric. Sci. Fini.*, 2: 431-435.
- Walsh, P.S., D.A. Metzger and R. Higuchi. 1991. Chelex® 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. *Biotechniques* 10: 506-513.
- Yao, J., D. Zadworny, U. Kuhnlein, S.E. Aggrey and J.F. Hayes. 1996. A *Msp I* polymorphism in the bovine ornithine decarboxylase gene and its possible association with selection for milk production in Holstein bulls. *Animal Genetics*, 27: 283-284.
- Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall inc. Englewood Cliffs, N.J., USA. pp. 718.

Recibido: 11-8-97. Aceptado: 31-3-98.

Archivos de zootecnia vol. 48, núm. 181, p. 106.