

NOTABREVE

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL GEN DE BETA LACTOGLOBULINA EN BOVINOS CRIOLLOS DE PERÚ

GENETIC VARIABILITY OF BETA LACTOGLOBULINS CRIOLLO CATTLE FROM PERU

Veli, E.A., E. Rivas Seoane, V. Rivas Palma, Y. Aquino y R. Estrada

Instituto Nacional de Investigación Agraria. INIA. Av. La Molina n° 1981. La Molina. Lima 12. Perú.
dnirrgg@inia.gob.pe

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Proteínas lácteas. Caracterización molecular. PCR-RFLP.

ADDITIONAL KEYWORDS

Milk proteins. Molecular characterization. PCR-RFLP.

RESUMEN

Para conocer el componente alélico de las β -lactoglobulinas (BLG) en poblaciones de bovinos Criollos, se evaluó la variabilidad genética del gen BLG en 267 animales de las comunidades campesinas (CC) de las regiones de Ayacucho, Puno y Ancash. Se reportan las frecuencias alélicas de los bovinos Criollos de las CC de estas regiones, encontrándose que todas las poblaciones están en equilibrio ($p < 0,05$). Asimismo, se observó que la frecuencia genotípica BLG^{AA} resultó menor respecto a las frecuencias BLG^{AB} y BLG^{BB}. Se discuten estos resultados, para que asociados a los genotipos de kappa caseína (CASK), producción de leche y rendimiento quesero de los bovinos criollos, puedan ser aplicados en futuros planes de mejoramiento, como alternativa de desarrollo económico sostenible que contribuya a mejorar la calidad de vida en las CC de estas regiones del Perú. Asimismo se resalta la importancia de la conservación *in situ* de estas especies adaptadas a un sistema de bajos insumos.

SUMMARY

Genetic variability of the gene β -lactoglobulin (BLG) was evaluated by PCR-RFLP with the objective to determine the allelic component of this gene in 267 Creole cattle of rural communities of Ayacucho, Puno and Ancash. In this paper allelic frequencies in Creole cattle of the rural communities of these regions are reported; all populations were in equilibrium ($p < 0.05$). The genotypic frequency of BLG^{AA} was low respect the BLG^{AB} and BLG^{BB} genotypic frequencies. Our results are

discussed to associate them to kappa caseins (CASK) genotypes, milk production and cheese yielding of Creole cattle. This information will be useful in future breeding programs, as an alternative to a sustainable economic development to improve life quality of the rural communities of these regions of Peru. It is important to indicate the relevance of the *in situ* conservation of this specie locally adapted that survives in low-input production systems.

INTRODUCCIÓN

Las beta lactoglobulinas (BLG) están controladas por un único *locus* en genes autosómicos y hay evidencias que permiten correlacionar sus variantes con aptitud lechera en las razas bovinas; las BLG ejercen un efecto significativo de la expresión de los genes en la composición de la leche y en sus propiedades de procesamiento, y rendimiento quesero (Ripoli *et al.*, 2003). Hay evidencias que el alelo A se asocia a una mayor producción de leche y proteína, mientras que el B se relaciona con un alto porcentaje de grasa (Bobe *et al.*, 1995), contenidos de caseína y proporción de caseína/proteína total (Sabour *et al.*, 1993). Asimismo, el alelo B de la BLG se asocia al mayor rendimiento quesero al elevar la síntesis de caseínas sobre las proteínas del suero de la leche (Bobe *et al.*, 1999).

Recibido: 10-7-06. Aceptado: 20-7-06.

Arch. Zootec. 57 (219): 341-344. 2008.

El objetivo de este trabajo fue determinar las frecuencias génicas de BLG en bovinos criollos de las comunidades campesinas (CC) de las regiones de Ayacucho, Puno y Ancash (Perú) con la finalidad de conocer los genotipos adecuados para ser considerados en futuros planes de mejora asociados al rendimiento quesero.

MATERIAL Y MÉTODOS

TOMA DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE ADN

Se colectaron muestras de sangre de 267 bovinos de las CC de tres regiones del Perú. La sangre se depositó en tubos conteniendo EDTA disódico (pH 8,0) al 2,5%. La extracción de ADN se llevó a cabo según el protocolo del Laboratorio de Biología Molecular del INIEA.

AMPLIFICACIÓN DE ADN Y DIGESTIÓN DE PRODUCTO AMPLIFICADO

Las pruebas de PCR RFLP se basaron en el protocolo de Poli y Medrano (1997), empleando los *primers* BLGP3 y BLGP4 y la enzima Hae III para el diagnóstico de los alelos A y B del gen BLG. La reacción estándar de PCR de volumen final 25 μ l contenía: 1 μ l de ADN (50-100 ng) y master mix (2,5 μ l buffer 10X, 1,5 μ l MgCl₂ 25mM, 0,125 μ l Taq polimerasa 5U/ μ l; 2,5 μ l dNTPs 1mM; 0,75 μ l de cada primer (10 pmol) y H₂O libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron: una fase de desnaturalización a 94°C por 3 min; seguido por 35 ciclos de 94°C por 45", 60°C por 60" y 72°C por 60" en un termociclador MJ Research PTC-200. Para la digestión del producto amplificado se utilizó 15 μ l del volumen de la reacción de PCR, 0,36 μ l de Hae III (10U/ μ l), 2,25 μ l de Buffer C y 4,89 μ l de H₂O NFW incubado por 2 h a 37°C.

DETERMINACIÓN DE LAS VARIANTES ALÉLICAS

Se realizó mediante la amplificación de un fragmento de ADN de 262 pares de bases (pb). Los fragmentos digeridos fueron separados por electroforesis en gel de agarosa

al 3% en buffer TBE 1X, adicionando bromuro de etidio. Las bandas se visualizaron en un transiluminador UV y se fotografiaron con un capturador de imágenes. El tamaño de alelos se determinó tomando como referencia la migración de fragmentos de un marcador de 50 pb.

DETERMINACIÓN DE LAS FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS

Se realizó por conteo directo de alelos y para el análisis estadístico se calcularon frecuencias alélicas y genotípicas; el equilibrio de Hardy Weinberg se estableció mediante la prueba de χ^2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A través de la técnica PCR-RFLP, se identificaron las variantes alélicas para la BLG, obteniéndose para el alelo A fragmentos de 109 y 153 pb y para el alelo B fragmentos de 74, 79 y 109 pb. En la **tabla I** se muestran las frecuencias genotípicas, alélicas y heterocigosidad. La frecuencia genotípica BLG^{AA} fue menor respecto a las frecuencias BLG^{AB} y BLG^{BB} en todas las poblaciones; la frecuencia observada del alelo A estuvo entre el 22 y 45%, mientras que el alelo B resultó entre 55 y 78%; todas las poblaciones se encontraron en equilibrio.

A nivel de comunidades, los bovinos de Qochapunto (Ayacucho) presentaron la mayor frecuencia BLG^{BB} (0,64) mientras que en Lampa Grande (Puno) la frecuencia fue menor (0,24); sin embargo, esta última población mostró mayor heterocigosidad (0,62) con respecto a Qochapunto (0,28). Se desconoce las causas de estas diferencias, ya que los criadores no llevan un registro de sus animales; para ellos los criterios más importantes considerados en la adquisición de un animal son el color y forma de cuernos; la selección de descarte casi no se realiza ya que cada animal adicional incrementa el ahorro familiar para asumir gastos futuros importantes.

VARIABILIDAD DEL GEN BETA LACTOGLOBULINA EN BOVINOS CRIOLLOS DE PERÚ

Tabla 1. Frecuencias genotípicas, alélicas y heterocigosidad en bovinos criollos de tres Regiones del Perú. (Heterocogosis, genotypic and allele frequencies in criollo cattle of three regions in Peru).

Región	Comunidad campesina	Número de animales	Frecuencias genotípicas		Heterocigosidad (BLG ^{AB})	Frecuencias alélicas	
			BLG ^{AA}	BLG ^{BB}		A	B
Ayacucho	Qochapunco	105	0,09	0,64	0,28	0,22	0,78
Puno	Lampa Grande	21	0,14	0,24	0,62	0,45	0,55
	Huacani	34	0,12	0,53	0,35	0,29	0,71
Ancash	Ticlos	32	0,06	0,44	0,50	0,31	0,69
	Mesapampa	28	0,04	0,50	0,46	0,27	0,73
	Pampa de Lampas	25	0,12	0,48	0,40	0,32	0,68
	Huashcao	22	0,09	0,32	0,59	0,39	0,61

Por otro lado, los bovinos criollos de las CC Lampa Grande (Puno) y Huashcao (Ancash) mostraron una mayor frecuencia del alelo A (0,45 y 0,39, respectivamente) en comparación con las otras poblaciones estudiadas; la alta frecuencia de este alelo puede deberse a la cercanía de estas CC a grandes centros poblados, donde el acceso a la capacitación es mayor, pero está dirigida a llevar a cabo planes de mejoramiento a través de cruza con razas exóticas (Holstein) en las que se ha reportado mayor frecuencia del alelo A (Scotto y Rosemberg, 2001). No se toma en cuenta que las razas exóticas requieren un manejo más tecnificado (alimento balanceado, pastos cultivados, control sanitario, etc.) lo cual incurriría en un mayor costo de producción que las familias campesinas no pueden sostener.

Las frecuencias alélicas para el gen BLG obtenidas en este estudio fueron similares a las encontradas en bovinos criollos peruanos reportados por Scotto y Rosemberg

(2001): BLG^A=0,227 y BLG^B=0,773. En la CC de Lampa Grande, estas frecuencias resultaron similares a los Criollos Argentinos (BLG^A= 0,49 BLG^B= 0,51 según Poli y Antonini (1991), así como en los bovinos Criollos Uruguayos (BLG^A=0,49 BLG^B=0,51) según Postiglioni *et al.* (2002). Sin embargo, en las otras CC estudiadas las frecuencias resultaron diferentes (**tabla 1**).

En relación a los *Bos indicus*, el Criollo peruano presenta frecuencias alélicas similares a los de las razas Gyr y Nelore (Kemenes y Lehmann, 1998).

Esperamos que estos resultados contribuyan al conocimiento de los bovinos Criollos para su conservación *in situ* como especies adaptadas localmente. La desaparición de estas poblaciones provocaría un efecto negativo en las actividades agrícolas, ya que el bovino Criollo está asociado a componentes agrícolas de bajos insumos (sistema de pastos naturales y agricultura de secano).

BIBLIOGRAFÍA

- Bobe, G., C. Beitz, A.E. Freeman and G.L. Lindberg. 1995. Effect of β -lactoglobulina phenotype on milk composition of Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 78: Supplement, Abstract P41 p. 165.
- Bobe, G., C. Beitz, A.E. Freeman and G.L. Lindberg. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J. Dairy Sci.*, 82: 2797-2804.
- Kemenes, P.A. e L. Lehmann. 1998. Frecuências dos Alelos "A" e "B" dos genes de kappa caseína e β -lactoglobulina frenas raças Holandesa, Nelore, Gir e Caracu. XXXV Reunião

VELI, RIVAS SEOANE, RIVAS PALMA, AQUINO Y ESTRADA

- Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
- Poli, M. and A. Antonini. 1991. Genetic structure of milk proteins in Argentina Holstein and Argentina Creole cattle. *Hereditas*, 115: 177-182.
- Poli, M. y J.F. Medrano. 1997. Informe final del proyecto Desarrollo de un rodeo AA y otro BB para capa-caseína y β -lactoglobulina de vacas lecheras, para mejorar la calidad de la leche para la producción de quesos. Department of Animal Science. University of California, Davis. USA.
- Postiglioni, A. I., G. Rincon, L. Kelly, S. Llambi, G. Fernandez, M. D'angelo, G. Gagliardi, J. Trujillo, M. de Bethencourt, K. Guevara, A. Castellano y M.V. Arruga. 2002. Biodiversidad genética en bovinos Criollos del Uruguay. Análisis con marcadores moleculares. *Arch. Zootec.*, 51: 195-202.
- Ripoli, M.V., P.M. Corva, A. Antonini, J.C. de Lúea, F. Rojas, F.N. Dulout y G. Giovambattista. 2003. Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza Criolla Saavedreña. *Arch. Zootec.*, 52: 89-92
- Sabour, M., C. Lin, A. Keough, S. Mechanda and A. Lee. 1993. Effect of selection practiced on the frecuencies of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes in Canadian artificial insemination bulls. *J. Dairy Sci.*, 79: 274-280.
- Scotto, E., C. y M. Rosemberg. 2001. Estudio de dos pares de genes en la α -lacto albúmina y la β -lactoglobulina en el ganado vacuno Holstein, Brown Swiss y Criollo de la Cuenca Central del Perú. *Boletín de Lima*, 124: 22-36.